UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1946-47 N° 121

UN NOUVEAU TEST DE GROSSESSE

LA RÉACTION DES MÉLANOPHORES SUR LA GRENOUILLE HYPOPHYSECTOMISÉE

(Travail du Laboratoire de l'Ecole de Santé Navale et Coloniale)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le mercredi 30 juillet 1947

PAR

MAURICE RIVES

Médecin-auxiliaire de la Marine

Lauréat des Facultés de Médecine de Montpellier et de Bordeaux

Diplômé de Médecine Coloniale

Diplômé de Médecine du Travail

né à MONTREUIL-SOUS-BOIS le 1er septembre 1920

Examinateurs de la Thèse :

MM. RIVIÈRE, professeur..... *Président*

DUBREUIL, professeur

MAGENDIE, agrégé

MAYER, agrégé

Juges

Perpignan

IMPRIMERIE DU MIDI

14, Rue de la Loge

1947

UN NOUVEAU TEST DE GROSSESSE

UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1946-47 N° 121

UN NOUVEAU TEST DE GROSSESSE

LA RÉACTION DES MÉLANOPHORES SUR LA GRENOUILLE HYPOPHYSECTOMISÉE

(Travail du Laboratoire de l'Ecole de Santé Navale et Coloniale)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le mercredi 30 juillet 1947

PAR

MAURICE RIVES

Médecin-auxiliaire de la Marine

Lauréat des Facultés de Médecine de Montpellier et de Bordeaux

Diplômé de Médecine Coloniale

Diplômé de Médecine du Travail

né à MONTREUIL-SOUS-BOIS le 1er septembre 1920

Examinateurs de la Thèse :

MM. RIVIÈRE, professeur..... *Président*

DUBREUIL, professeur

MAGENDIE, agrégé

MAYER, agrégé

Juges

Perpignan

IMPRIMERIE DU MIDI

14, Rue de la Loge

1947

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Doyen : M. DUPÉRIÉ. *Assesseur* : M. LABAT.

Professeurs honoraires :

M. DENIGÈS, A. MANDOUL, PETGES, GUYOT, ANDÉDODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES.

Professeurs :	MM.
Cinique médicale	DUPÉRIÉ.
— —	CREYX.
Clinique chirurg. et gynecol.	CHARRIER.
Clinique chirurgicale	PAPIN.
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE.
Anatomie pathologique et microscopie clin.	DE GRAILLY.
Anatomie	VILLEMIN.
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL.
Hygiène	PIECHAUD.
Médecine légale et déontologie	DERVILLÉE.
Electroradiol. et clinique d'électricité médic.	N.
Chimie	CHELLE.
Botanique et mat. médic.	GOLSE.
Pharmacie	VITTE.
Physiologie	FABRE.
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN.
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.
Médecine expérimentale	AUBERTIN.
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX.
Clinique chirurgicale inf. et orthop.	LOUBAT.
Clinique des maladies infectieuses	DAMADE.
Chimie biologique et médicale	MACHEBŒUF.
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT.
Méd. col. et clin. mal. exotiques	BONNIN.
Clin. mal. cutanées et syphilit.	JOULIA.
Clinique mal. des voies urinaires	DARGET.
Clinique mal. nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT.
Hydrologie thérap. et climatol.	N.
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ.

PERRENS (Maladies mentales). FAUGÈRE (Obstétrique).

Agrégés en exercice :

	MM.		MM.
Anatomie	DUFOUR.	Chirurgie générale	POUYANNE.
Physiologie	N.	Obstétrique	N.
Médecine générale	N.	—	MAHON.
— —	N.	Ophtalmologie	BESSIÈRE.
— —	N.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
— —	BROUSTET.	Dermatologie et syphiligr.	LE COULANT.
— —	TRAISSAC.	Physique médicale	N.
— —	SARIC.	Chim. gén., pharm. et toxic.	CASTAGNOU.
— —	DUBARRY.	Histoire natur. pharmac.	GIRARD.
Chirurgie générale	N.	Pharmacie	MESNARD.
— —	MASSÉ.	—	N.
— —	LAUMONIER.	Hist. natur. méd. et paras.	N.
— —	MAGENDIE.	Histologie	N.

Cours complémentaires :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	MASSÉ.	Cryptogamie	GIRARD.
Accouchements	MAHON.	Pharmacie galénique	MESNARD.
Puériculture	PERY.	Bactériologie	MOUREAU.
Zoologie et parasitologie	N.	Physiologie	Mlle ROUGIER.
Urologie	N.	Chimie biologique	TAYEAU.
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI.	Parasitol. et biologie appliq.	PAUTRIZEL.
Ophtalmologie	N.	Pathologie chirurgicale	VILLAR.
Anatomie	RIGAUD.	— —	LAUMONIER.
Chimie minérale	CASTAGNOU.	Electroradiologie	CAILLON.
Botanique	GIRARD.		

Le secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MES CHERS PETITS : MICHÈLE ET GILBERT,

qui auraient pu trouver dans cette thèse matière à leur premier signe de vie.

A MA FEMME BIEN-AIMÉE,

dont je ne dirai rien car elle est moi-même, et il ne convient pas de se flatter.

A MA MÈRE, A MON PÈRE,

en témoignage de ma profonde gratitude et du plus grand amour filial.

A LA MÉMOIRE DE MON COUSIN GEORGES RIVES,

Déporté politique au camp de Flossenburg.
Mort pour la France au printemps de 1944,
après de longs mois de tortures.
Médaille Militaire
Croix de guerre.
Médaille de la Libération

Il demeure l'Exemple.

A TOUS MES PARENTS

A TOUS MES AMIS

A TOUS MES CAMARADES
DE L'ÉCOLE DE SANTÉ NAVALE

A MONSIEUR LE DOCTEUR G.-F. MORETTI,
Médecin de la Marine
Chef de clinique à la Faculté,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Croix de guerre.

En témoignage de mon respectueux attachement et de mes plus sincères remerciements pour ses précieux conseils.

A MONSIEUR LE PHARMACIEN R. BABIN,
Pharmacien-Chimiste de la Marine,
Licencié ès-Sciences,
Professeur-Agrégé
du Service de Santé de la Marine,

qui m'a guidé dans une partie de mes expériences. hommages reconnaissants.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR-AGRÉGÉ MAGENDIE,
Chirurgien des Hôpitaux,
Croix de guerre

qui m'a permis de travailler de si profitable façon dans son service de l'hôpital Boursier.

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL
DE 2e CLASSE GALIACY,

Directeur de l'Ecole Principale
du Service de Santé de la Marine,
Commandeur de la Légion d'Honneur,
Croix de guerre.

A MONSIEUR LE MÉDECIN EN CHEF
DE 2e CLASSE BOURRET,

Sous-Directeur de l'Ecole Principale
du Service de Santé de la Marine,
Officier de la Légion d'Honneur,
Commandeur du Nickam Iftikar,
Officier du Ouissan Alaouite

A TOUS LES OFFICIERS
DE L'ÉCOLE DE SANTÉ-NAVALE.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. DUBREUIL,
Professeur d'Anatomie générale et d'histologie,
Membre correspondant de l'Académie de Médecine,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Officier de l'Instruction Publique.

A NOS JUGES

A NOS MAITRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR RIVIÈRE,

Professeur de clinique d'accouchements,

Chevalier de la Légion d'honneur,

Croix de guerre,

Officier d'Instruction Publique.

En le remerciant respectueusement de son enseignement, des conseils qu'il nous a prodigués et de l'accueil bienveillant qu'il nous a toujours réservé.

INTRODUCTION

Le diagnostic de grossesse est certainement un de ceux que le médecin praticien doit le plus souvent poser dans sa clientèle. Or, tout au moins en ce qui concerne le dépistage précoce, la clinique seule est souvent incapable d'apporter les éléments de certitude nécessaires. C'est ainsi qu'il y a seulement vingt ans, il arrivait encore aux médecins les plus avertis, aux chirurgiens les plus expérimentés, de passer à côté de ce diagnostic et d'entreprendre des thérapeutiques dont les résultats ne tardaient pas à se révéler plus ou moins désastreux.

Fort heureusement, le laboratoire est venu au secours de la clinique, et il est maintenant susceptible de fournir à tous les problèmes que pose la grossesse au début une réponse comportant un minimum de réserves et d'erreurs. Le diagnostic biologique de la grossesse, par les procédés actuellement mis en pratique, est à peu près sûr et rend d'inestimables services ; toutefois le délai de réponse est relativement long et le prix de revient élevé.

Nous nous proposons de faire connaître, dans ce travail, une nouvelle méthode pratique, rapide, sûre et peu coûteuse de diagnostic de la grossesse ; il s'agit de la réaction mélanophoro-dilatatrice chez la grenouille hypophysectomisée. Nos recherches expérimentales portent sur l'étude de plus de deux cents urines provenant de femmes enceintes normales ou pathologiques et de femmes non enceintes, saines ou malades.

Nous envisagerons dans sept chapitres successifs :

1) Un rappel historique sur les divers tests de grossesse *connus et sur les principes de leur application.*

2) Quelques généralités sur la glande pituitaire et l'hypothalamus *considérés du point de vue morphologique microscopique et histophysiologique.*

3) Une étude sur le mélanophore, *sa morphologie et sa physiologie.*

4) L'hormone mélanotrope : *découverte, origine sécrétoire, extraction, propriétés, individualité, rôle physiologique, titrage, localisations dans l'organisme, mécanisme d'action et rôle dans la régulation de la mélanocinèse.*

5) Le test des mélanophores *tel qu'il fut pratiqué par divers auteurs pour le diagnostic de la grossesse et les raisons des échecs qui ont couronné ces tentatives.*

6) L'animal réactif que nous employons : *son choix, sa préparation par une nouvelle technique d'hypophysectomie ; les suites opératoires de cette intervention, la pratique du test.*

7) Résultats obtenus dans la grossesse et en dehors de la grossesse ; *action de certaines substances chimiques sur la grenouille hypophysectomisée ; concentration de l'hormone mélanotrope dans les urines.*

Nous devons l'idée première de cette thèse à M. le Professeur Rivière *et à M. le Docteur* Moretti. *Nos expériences ont été guidées par M. le Docteur* Moretti *et M. le Pharmacien-Chimiste* R. Babin. *Nous remercions M. le Professeur* Dubreuil *et M. le Professeur-Agrégé* Magendie *pour la bienveillance dont ils ont toujours fait preuve à notre égard. Enfin, nous ne saurions terminer sans adresser un témoignage d'amicale reconnaissance à tous nos camarades de l'Ecole de Santé Navale qui se sont intéressés à notre travail et nous ont aidé sans compter.*

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE DES TESTS DE GROSSESSE

Un très grand nombre de réactions chimiques, physico-chimiques, histologiques, biologiques ont été successivement proposées comme tests de grossesse. Beaucoup d'entre elles se montrèrent décevantes et furent abandonnées par suite de leur manque de spécificité et de précision ; nous n'en ferons qu'une très rapide description. Nous insisterons par contre davantage sur les procédés actuels dont le point commun est l'action sur un animal réactif des hormones gonadotropes ou prolans éliminées dans les urines pendant la gestation. Enfin, nous terminerons ce chapitre en envisageant les derniers tests proposés demeurant encore dans le domaine de l'expérimentation.

I. – TESTS ABANDONNÉS

1) *Réaction d'*ABDERHALDEN *à la ninhydrine.* — Un extrait quelconque de placenta est mélangé dans un tube à dialyse avec du sérum de la femme à examiner. Le liquide de dialyse, additionné d'une solution de ninhydrine à 1 %, à raison de 0 cm³ 2 pour 10 cm³ de liquide, est placé pendant 16 heures à la température de 37° c.

La réaction positive (apparition d'une coloration violet-bleu) se voit dans l'état de gestation, mais aussi dans d'autres cas (15 % d'erreurs) ; elle n'est donc pas spécifique. Par contre,

une réaction négative permet d'éliminer le diagnostic de grossesse.

2) *Epreuve du venin de cobra.* — Le venin de cobra, mis au contact de sérum de femme enceinte, aurait un pouvoir hémolytique plus intense qu'avec du sérum de femme normale.

3) *Pouvoir anti-tryptique.* — Ce pouvoir, dévolu au sérum de femme enceinte, n'a aucune spécificité.

4) *Réaction de* Manoilov *à la théobromine.* — A 5 gouttes de sérum de la femme à examiner, on ajoute 1 cm^3 d'une solution aqueuse à 2 % de théobromine pure et 1 goutte de solution alcoolique à 2 0/00 de bleu de Nil. Si la réaction est positive, on obtient un virage au jaune, puis au rouge ; si elle est négative, un virage au bleu, puis au mauve.

5) *Réaction de* Bercovitz. — L'instillation dans l'œil de la femme à examiner d'une goutte de son propre sang provoque, si elle est enceinte, une contraction ou une dilatation de la pupille dans un délai de 2 à 5 minutes. Cette réaction ne fait que traduire un déséquilibre vago-sympathique ; elle n'est nullement spécifique de la grossesse et de l'intoxication gravidique ; elle serait d'ailleurs positive dans certains cas avec le sang du mari !

6) *Test de la sédimentation* (Alcieri-Falta). — Il repose sur le fait que la sédimentation globulaire est accélérée à partir du quatrième mois de la grossesse. Malheureusement, toutes les autres causes d'augmentation de la vitesse de sédimentation constituent autant de possibilités d'erreur. De plus, ce test manque de précocité.

7) *Réaction de* Samuel. — La réduction de l'oxyhémoglobine en methémoglobine correspond à un temps de transformation assez constant chez la femme enceinte ; il est oscillant chez la femme non gravide.

8) *Réaction d'*Alfanoseisky. — La teneur en soufre des cheveux de femme enceinte est plus élevée que celle des cheveux d'une femme normale. La technique consiste à mettre

des cheveux au contact d'une solution de bleu de méthylène. Si la femme est enceinte, on obtient une décoloration en 10 à 15 secondes ; si elle ne l'est pas en 1 minute et demie à 2 minutes.

9) *Réaction à la phloridzine* (Kamitzer-Joseph). — L'injection sous-cutanée ou intra-musculaire de 2 milligrammes et demi de phloridzine détermine, chez la femme enceinte, l'apparition, au bout de 30 minutes, d'une glycosurie qui persiste environ 4 heures. Pour obtenir le même résultat chez la femme non enceinte, il faut injecter une dose double de phloridzine.

10) *Recherche de l'œstriol dans l'urine* (Patterson, Bierry, Gouzon). — La valeur de ce test est douteuse.

11) *Réaction de* Wisscher-Bowman. — Une urine riche en prolans donne, en présence de certains réactifs, une coloration marquée et une floculation qui seraient absentes ou insignifiantes avec une urine normale.

12) *Intra-dermo réaction aux prolans.* — L'injection intradermique de 0 cm^3 2 d'une solution dosée à 100 unités de prolans par centimètre cube provoque la formation d'une aréole érythémateuse chez la femme non enceinte. Il ne se produit rien si la femme est gravide. Cette méthode paraît séduisante au premier abord, malheureusement elle est sujette à de fréquentes erreurs.

13) *Test histologique de* Bertrand et Smith. — Il consiste à mettre en évidence, sur un prélèvement d'épithelium vaginal de femme enceinte, la vacuolisation plus ou moins intense des cellules de la couche basale.

14) *Réaction de* Lorincz *à la post-hypophyse.* — L'injection intra-veineuse de 2 unités d'un extrait de lobe postérieur d'hypophyse provoque, chez la femme enceinte uniquement, une contraction utérine indolore, débutant 1 minute et demie après l'injection et durant 4 à 5 minutes. Ce procédé est fidèle mais dangereux, car il risque de provoquer l'avortement.

15) *Test d'*Abramson, Hurwitt et Lesnick. — Chez un cobaye femelle, à qui l'on a enlevé les ovaires et que l'on a préparé pendant 4 à 5 jours par des injections de folliculine, l'injection de sérum de femme gravide amène un relâchement de la symphyse pubienne.

II. – TESTS ACTUELS

Le principe commun à tous ces procédés, encore appelés tests aux gonadotropes ou tests-prolans, fut découvert par Ascheim qui décrivit le premier, en 1926, l'action gonadotrope exercée par l'urine de femme enceinte sur les ovaires de souris impubères.

Deux ans après, le même auteur, avec Zondek, élevait la recherche de cette propriété en méthode de diagnostic de la grossesse ; tous deux réussirent en outre à isoler des urines gravidiques une fraction très riche en principe actif qui reçut le nom de prolan.

L'injection de cette substance à des souris femelles impubères provoquait des modifications ovariennes identiques aux effets de l'implantation de lobe antérieur pituitaire : après 48 heures, les ovaires devenaient hyperhémiques ; au bout de 72 heures, leur surface présentait des follicules hypertrophiés avec des hémorragies intra-folliculaires ; la 100e heure, enfin, marquait l'apparition de corps jaunes atrésiques formés de follicules non rompus et partiellement luteïnisés. Les observateurs conclurent, de ce fait, à l'existence de trois types de réactions ovariennes causées par le prolan :

— la maturation folliculaire ;

— les hémorragies intra-folliculaires ;

— la lutéïnisation des follicules avec formation de corps jaunes atrésiques.

Par la suite, en expérimentant avec des urines de femmes ménopausées ou atteintes de certains cancers génitaux, Ascheim et Zondek obtinrent un effet gonadotrope strictement limité à

la maturation folliculaire, avec hémorragies et sans lutéïnisation. C'est alors qu'ils émirent l'hypothèse de la dualité constitutionnelle du prolan, en distinguant deux principes séparés : un prolan A follicunisant et un prolan B lutéïnisant. Ceci permettait de rapprocher l'action des prolans urinaires de celle des gonadostimulines A et B, extraites du lobe antérieur de la pituitaire par Evans et Long, en 1921, puis par Fevold et Hisaw un peu plus tard.

La théorie admettant la dualité A et B des prolans urinaires d'une part, et des gonadostimulines d'autre part, ne tarda pas à être controversée. Brouha et Simonnet, en 1929, Hill et Parkes, en 1931, furent les premiers à la combattre pour lui substituer une théorie uniciste : il n'y a qu'un seul prolan, qu'une seule gonadostimuline : l'effet folliculinisant ou lutéïnisant de ces facteurs est uniquement le fait de concentrations variables en principe actif du produit expérimenté. — Cette hypothèse n'est plus guère retenue depuis que l'on est parvenu à isoler à l'état presque pur un principe A et un principe B dans la pituitaire antérieure (Fevold, Hisaw et Leonard), dans les urines (Ascheim et Zondek) et dans le placenta humain (Crew et Wiesner). Il semble même possible d'admettre aujourd'hui, à la suite des travaux d'Evans, en 1932, de Brindeau, M. et H. Hinglais, en 1934, l'existence d'un troisième principe gonadotrope : *le prolan C* ou gonadostimuline C qui aurait une action pré-lutéïnisante. La succession des effets biologiques se ferait alors de la manière suivante :

— maturation folliculaire (prolan A) ;
— sensibilisation du follicule mur (prolan C) ;
— lutéïnisation du follicule sensibilisé (prolan B).

On obtient ce facteur C en soumettant, pendant quelques minutes, un extrait pituitaire alcoolo-ammoniacal à la cuisson, qui détruit toutes les autres hormones. Le prolan C serait, pour certains auteurs, la seule hormone gonadotrope vraiment spécifique de la pituitaire, les prolans A et B pouvant être également sécrétés par le placenta, l'endomètre et les surrénales (Roussy et Mosinger).

Il reste difficile, à l'heure actuelle, de préciser l'origine des prolans urinaires. Sur ce point, qui reste encore très discuté. les auteurs se sont divisés en deux groupes. Les uns, avec Ascheim et Zondek, admettent l'origine pituitaire de ces prolans et, par suite, leur identité de nature avec les gonadostimulines. Les autres, à la suite d'Evans et Smith, de Schockaert, d'Hamburger, concluent au contraire à une origine placentaire et à une différence de constitution chimique avec les gonadostimulines.

Le rôle endocrine du placenta n'a pas encore été démontré de façon rigoureuse. Les phénomènes provoqués par l'injection d'extraits placentaires à divers animaux n'apportent pas la preuve formelle de la sécrétion interne de cet organe. En effet, dans la préparation de ces extraits, il est pratiquement impossible de se débarrasser de la totalité du sang que le placenta contient en abondance. Or ce sang renferme des hormones ovariennes et pituitaires susceptibles de fausser les expériences. De plus, la richesse hormonale d'un extrait placentaire peut être aussi bien le fait d'une accumulation tissulaire que d'une sécrétion propre. — Tout dernièrement, Seegar et Gey (1940) ont signalé que des cultures pures de tissu placentaire s'étaient révélées capables de produire de la folliculine, de la progestérone et des prolans. Ces résultats seraient susceptibles de trancher la question, mais ils demandent à être vérifiés.

D'un autre côté, seule l'hypothèse d'une participation pituitaire à l'élaboration des prolans permet d'expliquer leur présence en fortes quantités dans les urines pendant les jours qui suivent l'évacuation complète d'une môle hydatiforme (Klein). L'observation de quelques différences dans les propriétés physico-chimiques des prolans et des gonadostimulines ne suffit pas pour nier leur identité d'origine. Il est en effet logique d'admettre, avec Mahnert (1933), Reiss, Pick et Winter (1933), que le passage à travers le filtre rénal peut être un facteur de modifications chimiques dont les dérivés urinaires de la folliculine nous donnent un exemple indiscutable. La notion de la sécrétion pituitaire des prolans

s'intègre d'ailleurs de façon parfaite à l'hypothèse d'un hyperfonctionnement pituitaire durant la grossesse. Cette idée, combattue par COLIN et WEIS, s'appuie cependant sur une double argumentation expérimentale :

1) Il existe une *réaction gravidique de la pituitaire* caractérisée par une augmentation de volume et de poids, une vasodilatation intense et l'apparition de cellules de grande taille dites cellules de grossesse d'ERDHEIM et STUMME dont l'appareil de Golgi et le chondriome sont nettement hypertrophiés (SEVERINGHAUS).

2) Nous verrons avec plus de détails, dans la suite de cette étude, comment on dépiste dans les urines de femmes enceintes l'hormone mélanotrope ou intermedine, sécrétée par la pituitaire, alors qu'on ne la trouve pas dans les urines de femmes normales. Ce fait ne peut s'expliquer que par un hyperfonctionnement gravidique de la pituitaire, à moins d'admettre l'hypothèse peu probable que le placenta, glande à tout faire, secrète aussi de l'intermedine !

Telles sont les quelques notions qu'il nous a paru utile d'exposer avant d'étudier rapidement les diverses techniques des tests aux gonadotropes.

1) *Réaction d'*ASCHEIM-ZONDEK (1928). — On injecte sous la peau de 5 souris femelles impubères (de 6 à 8 gr.) 0 cm^3 3 d'urines du matin, trois fois par jour, pendant trois jours, et on les sacrifie le cinquième jour avec du chloroforme ou du gaz d'éclairage. Lorsque la réaction est positive on constate en premier lieu que l'utérus et les trompes sont congestionnés, mais il s'agit là d'une réaction folliculinique non spécifique et inconstante, en second lieu que les ovaires hypertrophiés présentent à leur surface des follicules hémorragiques (réaction spécifique).

Cette méthode donne 98 à 99 % de réponses exactes : elle a l'inconvénient de nécessiter assez souvent un examen histologique, car les modifications macroscopiques sont parfois inappréciables.

2) *Méthode simplifiée de* Zondek. — Elle consiste à ne faire qu'une seule injection sous-cutanée de 0 cm³ 5 d'urines matinales concentrées à des rates impubères de 4 à 5 semaines (de 22 à 25 gr.) ; 72, 84 et 92 heures après l'injection, on effectue un frottis vaginal que l'on examine. La réaction est positive lorsque l'on observe la présence de cellules kératinisées dans un ou plusieurs des frottis. On peut substituer à l'urine du sérum sanguin pur ou dilué de moitié, injecté à la même dose.

3) *Réaction du souriceau mâle* (Brouha, Hinglais et Simonnet - 1929). — On utilise le souriceau impubère de 8 à 10 gr. Il faut 6 à 8 animaux-réactifs et 4 à 6 animaux-témoins. On injecte sous la peau des premiers 0 cm³ 3 d'urine une fois par jour pendant 8 à 10 jours. Si la réaction est positive, on trouve à l'autopsie des testicules très gros et abaissés ainsi que des vésicules séminales très hypertrophiées. Cette réaction donne 99,5 % de résultats exacts, car elle est spécifique du prolan B de lutéïnisation, mais le délai de réponse est de 10 jours.

4) *Test à la lapine de* Friedmann, Brouha, Hinglais et Simonnet (1931). — On se sert d'une lapine vierge de 3 mois ou d'une lapine adulte séparée du mâle depuis 40 jours. Dans les deux cas, il est prudent de procéder au préalable à un contrôle des ovaires par laparotomie ou plus simplement avec l'endoscope de Suchet. Il faut injecter dans la veine marginale de l'oreille 5 à 8 cm³ d'urines matin et soir pendant 2 jours ; le troisième jour on fait une laparotomie. Quand la réaction est positive, les ovaires sont hypertrophiés et congestionnés ; à leur surface on constate la présence de follicules hémorragiques turgescents et rouge-noirs. Parfois l'utérus et les trompes sont également congestionnés et hypertrophiés, mais comme dans le test d'Ascheim et Zondek, il s'agit là aussi d'une réaction non spécifique due à la folliculine. Le test à la lapine donne 95 à 97 % de résultats exacts.

5) *Test des six heures de* Salmon *et* Geist (1943). — On injecte 2 cm³ d'urine sous la peau de rates impubères de 4 semaines (30 gr.) que l'on sacrifie 6 heures après: En cas de

réaction positive, les ovaires sont hyperhémiés et l'utérus congestionné. Il est parfois difficile de différencier la réponse spécifique de l'effet folliculinique non spécifique.

6) *Test à la grenouille de* Hogben, Elkan, Weissman, Coates (1942). — Sous la stimulation des hormones gonadotropes de mammifères telles qu'elles sont excrétées dans les urines de femmes enceintes, la femelle de Xenopus lævis, ou crapaud armé d'Afrique du Sud, aquatique et carnivore, expulse des œufs qu'elle a la particularité de porter toute l'année dans son tractus genital. Cet animal est susceptible de vivre plus de 12 ans au laboratoire ; il n'est pas nécessaire de le tuer pour vérifier le test ; enfin on peut l'utiliser indéfiniment, à condition qu'il soit maintenu à une température de 22° et nourri une fois par semaine.

Seuls les animaux qui ont entièrement ovulé après une injection de 100 unités de gonadotrophine choriale trois semaines auparavant peuvent être utilisés pour la première fois. On les fait resservir un mois après si la réaction a été positive et seulement une semaine après si elle a été négative.

La technique consiste à injecter 2 à 3 cm^3 d'urines, ou mieux d'extrait préparé selon la méthode Scott, dans le sac lymphatique dorsal du Xenopus. L'animal est placé dans un bocal à fond de grillage métallique, situé au-dessus d'un récipient contenant un peu d'eau pour recueillir les œufs.

La réaction positive est caractérisée par la ponte au bout de 6 à 30 heures, selon la température, d'un nombre d'œufs variable allant de 6 à plusieurs centaines. Elle est extrêmement sensible et donne 100 % de résultats exacts ; malheureusement, il est difficile de se procurer des animaux, et leur élevage demande des conditions tout à fait spéciales de température et d'installation matérielle.

L'interprétation générale des tests-prolans montre qu'ils sont positifs dans la grossesse normale ou extra-utérine avec œuf vivant, dans la môle hydatiforme vivante, dans le chorio-épithéliome et dans toutes les rétentions placentaires. Ils

donnent lieu, de plus, à des réactions faussement positives lors d'un traitement hormonal récent et lorsqu'il y a présence de prolan A (certains cas de ménopause, d'aménorrhées chez les femmes jeunes, de kystes lutéïniques de l'ovaire et de cancers utérins). Il y aura donc un intérêt supérieur à se servir du test souriceau-mâle, animal réactif spécifique du prolan B.

La mise en pratique de tous les procédés aux gonadotropes nécessite un certain nombre de précautions. Les unes auront pour but d'obtenir des urines concentrées au maximum : boire très peu au repas du soir, éviter d'uriner la nuit, recueillir les premières urines du matin après toilette vulvaire. D'autres s'efforceront de ménager l'animal : addition de 3 à 5 % de glucose aux urines pour les rendre atoxiques (Zondek), tiédir l'urine avant de l'injecter. Enfin, on évitera une cause importante d'erreurs en s'abstenant de tout traitement à base d'extraits anté-hypophysaires pendant les jours qui précèdent le prélèvement d'urines.

III. – TESTS EN EXPÉRIMENTATION

1) *Test de* Soskin *à la prostigmine.* — L'injection dans les muscles de la fesse de la femme à examiner de 1 à 3 cm^3 par jour de prostigmine pendant trois jours consécutifs détermine, 72 heures après la dernière injection, une hémorragie utérine (pseudo-règles) en cas d'amenorrhée simple. Le test est négatif en cas de grossesse. Cette épreuve est très sûre et dénuée d'inconvénients.

2) *Test de* Marcou : *dosage de l'histaminase* (1938). — Il y a dans le sang de la femme enceinte une augmentation du taux de l'histaminase et une diminution consécutive de celui de l'histamine. Le dosage chimique de l'histaminase sanguine constitue un test de grossesse positif à partir du 10e jour après la fécondation.

D'après Marcou, cette hyperhistaminasémie gravidique serait un mécanisme de défense contre l'hémorragie utérine du post-

partum (diminution de la vaso-dilatation par suite de la destruction plus grande de l'histamine du sang).

3) *Test de* Beclère (1944). — Chez une femme dont la température est habituellement connue au cours du cycle menstruel, la persistance d'une hyperthermie lutéïnique rectale, dépassant 37° le matin, tous les jours pendant plus de 20 jours, est un signe biologique de présomption de grossesse. Toutes les autres causes d'élévation de la température constituent autant de possibilités d'erreurs et diminuent la valeur de ce test.

4) *Test chimique de* Jayle (1945). — Il est basé sur la précocité et l'importance de l'élimination urinaire du pregnandiol en cas de grossesse au début, et inversement, sur la chute brusque du taux urinaire de ce principe en cas de fausse couche.

5) *Test chronaximétrique de* Lecocq *et* Chauchard (1946). — Après extériorisation d'une corne utérine de rate impubère ou de lapine séparée du mâle depuis 40 jours, on place la cathode du chronaximètre de Bourguignon sur cette corne et l'anode dans le vagin. On mesure la chronaxie initiale, puis la chronaxie une ou deux minutes après le dépôt sur la corne utérine d'une goutte de sérum ou d'urine de la femme à examiner. A l'état normal, les deux indices chronaximétriques sont compris entre 100 et 200. En cas de grossesse, ces chiffres sont augmentés : ils croissent progressivement jusqu'à 2.000 dans le courant des trois premiers mois pour diminuer ensuite jusqu'à 450 (neuvième mois). Le résultat est donné en 1 heure ; un excès de folliculine peut constituer une cause d'erreur en abaissant l'indice.

6) *Test des mélanophores.* — On peut ranger sous cette rubrique un certain nombre de tentatives que nous rapporterons plus loin à propos de notre étude sur la valeur d'une telle réaction, lorsqu'elle est effectuée sur la grenouille hypophysectomisée.

CHAPITRE II

GÉNÉRALITÉS SUR LE COMPLEXE HYPOPHYSO-PITUITAIRE ET L'HYPOTHALAMUS

Au début de l'étude d'un test mettant en évidence une des sécrétions de ce que l'on nomme encore à tort l'hypophyse, nous rappellerons schématiquement les diverses connaissances acquises sur cette formation neuro-glandulaire chez l'homme. Elle comprend la glande pituitaire d'une part et la neuro-hypophyse ou hypophyse proprement dite d'autre part. Chacune de ces deux portions a une individualité embryologique et histologique nette, mais du point de vue fonctionnel elles présentent un certain nombre de synergies, c'est pourquoi on désigne aujourd'hui l'ensemble sous le nom de complexe hypophyso-pituitaire.

I. — HISTORIQUE

Gallien décrivit le premier le complexe hypophyso-pituitaire comme un organe transformant la pituite, sécrétée par le troisième ventricule, en mucosités déversées dans les fosses nasales à travers les trous ethmoïdaux. La théorie de Gallien, reprise par Vésale au moyen âge, fut définitivement abandonnée lors-

que Schneider, en 1660, eut démontré que les trous ethnoïdaux ne sont perméables que sur l'os sec. Willis, Sylvius, Vieussens, Monroe, pensent alors que la formation en question a pour rôle de sécréter le liquide céphalo-rachidien et cette idée persiste jusqu'au XIXe siècle. A cette époque, Burdach et Meckel attribuent au complexe hypophyso-pituitaire une fonction purement glandulaire tandis que d'autres, à la suite de Bock, en font au contraire un organe de nature nerveuse.

Engel, en 1839, démontre l'existence des relations pathologiques entre la pituitaire d'une part, la thyroïde et les glandes génitales d'autre part. Cependant il faut attendre 1860 et les travaux de Liégeois pour voir survenir l'hypothèse que cette formation joue le rôle d'une glande vasculaire sanguine libérant dans la circulation certains produits indispensables au métabolisme. Sept années plus tard, en 1867, Peremeschko précise la distinction anatomique, établie par Haller, entre le lobe antérieur et le lobe postérieur ; il décrit la fente hypophysaire ainsi que la zone intermédiaire.

Au même moment Brown-Séquart, frappé par sa ressemblance histologique structurale avec la thyroïde, assimile la glande pituitaire à une glande endocrine. Ce rapprochement, d'importance capitale, suscite dès lors un grand nombre de recherches dont les conclusions permettent de préciser de plus en plus le rôle considérable de la pituitaire et de la neurohypophyse. P. Marie, en 1886, met en évidence l'intervention du complexe hypophyso-pituitaire dans la croissance en décrivant l'acromégalie. Marinesco, en 1891, réussit le premier l'hypophysectomie chez le chat, apportant aux chercheurs un précieux moyen d'exploration fonctionnelle ; la même année, Oliver et Schaffer constatent que l'extrait total hypophyso-pituitaire est hypertenseur. Successivement sont alors découverts : l'effet diurétique par Magnus et Schæffer, en 1901, l'action ocytocique par Dale, en 1906, l'influence sur le métabolisme des glucides par Borchardt, en 1908, l'effet melanophorique par Smith, en 1916. Des extraits post-hypophysaires sont reconnus galactagogues par Ott et Scott, en 1910, hypertenseurs par Patou et Watson, en 1912, antidiurétiques par Farini, en 1913.

Camus et Roussy (1912-1914) ouvrent de nouveaux horizons en montrant le rôle de l'hypothalamus dans divers métabolismes (eau, glucides, graisses, sels minéraux) et dans la fonction génitale. L'action de la pituitaire sur les autres glandes endocrines est mise en évidence pour l'appareil génital par Evans et Long, en 1921, et par Ascheim et Zondek, en 1926, pour la thyroïde par Loeb, Aron et Houssay, en 1929, pour les parathyroïdes, le pancréas endocrine, la cortico-surrénale par Smith, en 1920-1921, pour la médullo-surrénale par Anselmino et Hoffmann.

Les travaux sur les diverses activités de la glande pituitaire, de la neuro-hypophyse et de l'hypothalamus deviennent alors très nombreux et démontrent avec abondance l'influence considérable exercée par le complexe hypophyso-pituitaire sur l'ensemble des appareils endocrinien et neuro-végétatif. L'énumération de ces recherches deviendrait vite fastidieuse et sortirait du cadre que nous nous sommes fixé.

II. – MORPHOLOGIE

Logé dans la selle turcique du sphénoïde, recouvert par la tente de l'hypophyse que traverse la tige pituitaire, le complexe hypophyso-pituitaire est un organe impair et médian de la base de l'encéphale, situé entre le chiasma optique en avant et les tubercules mamillaires en arrière.

L'histologie et l'embryologie permettent de lui décrire deux parties distinctes: la glande pituitaire et la neuro-hypophyse.

La pituitaire qui dérive d'un diverticule ectodermique pharyngien : la poche de Rathke, a la structure d'une glande vasculaire sanguine et comprend : un feuillet antérieur épais, ou lobe antérieur, un feuillet postérieur mince, ou lobe intermédiaire, séparé du précédent par la fente hypophysaire et enfin la pars tubéralis.

La neuro-hypophyse, ou hypophyse proprement dite, est placée en arrière de la pituitaire. Elle provient de l'ectoderme

neural par une évagination du plancher du troisième ventricule; elle a une structure névroglique et forme le lobe postérieur.

Depuis Dostojewski et Flesh (1884), on sépare les cellules du complexe hypophyso-pituitaire en deux grandes variétés :

1) *Les cellules chromophobes* ou principales, peu colorables.

2) *Les cellules chromophiles,* à protoplasma finement granuleux, qui se divisent en deux types :

— Les cellules éosinophiles ou acidophiles dont les granulations, très petites, sont colorées en rouge par le mélange de Mann et déterminent d'après leur nombre un aspect hyperéosinophile, hypoésinophile ou typique.

— Les cellules cyanophiles ou basophiles à granulations plus grosses et colorées en bleu, avec les modalités hypercyanophile et hypocyanophile.

La répartition de ces divers éléments permet de caractériser chacun des lobes.

1) *Le lobe antérieur* est formé de travées épithéliales anastomosées dont les cellules sont intimement au contact des nombreux capillaires sinusoïdes du conjonctif intertrabéculaire. D'après Rasmussen, le pourcentage des diverses variétés cellulaires serait le suivant : chromophobes 52 %, éosinophiles 37 %, cyanophiles 11 %. De plus, on a signalé, dans cette portion de la pituitaire, la présence d'amas de noyaux libres (Rogowitsch) et de cellules épuisées vacuolaires (Kraus, Collin) dont nous verrons la signification plus loin.

2) *Le lobe intermédiaire* est nettement individualisé chez l'enfant mais réduit chez l'adulte à une formation très mince incluse entre le lobe antérieur et le lobe postérieur. On y voit :

— des travées de cellules surtout cyanophiles, groupées autour des capillaires du tissu conjonctif,

— des formations kystiques ou craniopharyngiomes, vestiges du canal pharyngo-pituitaire, contenant de la colloïde et tapissées de cellules de type variable,

— des amas de noyaux libres,

— quelques ilots para-malpighiens, décrits par Roussy et Mosinger, et qui signent l'origine embryologique pharyngée du lobe intermédiaire.

3) *La pars tuberalis,* entourant plus ou moins complètement la tige pituitaire, renferme des cellules glandulaires des trois types, tout au moins chez l'homme, et quelques amas de noyaux libres. Autour de ces cellules, réunies en boyaux, on trouve le tissu conjonctif qui, outre les vaisseaux loge un certain nombre d'îlots para-malpighiens.

4) *Le lobe postérieur* ou neuro-hypophyse est formé de tissu névroglique dont les cellules, du type astrocyte (Collin et Kissel) ou oligodendroglique (Casper) ont la particularité d'être douées de propriétés glandulaires. L'ensemble est traversé par les cylindraxes du faisceau hypothalamo-hypophysaire. En plein tissu nerveux, on rencontre quelques cellules glandulaires, éosinophiles et basophiles, soit d'origine autochtone, soit le plus souvent en provenance du lobe intermédiaire (neurocrinie cellulaire). Des granulations pigmentaires voisines des mélanines et résultant de la désagrégation des cellules éosinophiles (Clunet et Jonesco) parsèment également les préparations de lobe postérieur.

On peut observer des cellules de type antérieur (éosinophiles et chromophobes) dans le lobe intermédiaire et des cellules de type intermédiaire (cyanophiles) dans le lobe postérieur. Nous retrouverons ce phénomène d'interpénétration et de diffusion en étudiant le devenir de la colloïde.

Depuis 1936, Roussy et Mosinger ont attiré l'attention sur les rapports étroits qui lient l'hypothalamus au complexe hypophyso-pituitaire du point de vue à la fois morphologique et fonctionnel. L'hypothalamus est la partie de l'encéphale limitée en avant par le chiasma et la zone pré-optique, en arrière et sur les côtés par les formations extra-pyramidales du subthalamus (champs de Forel, zona incerta, corps de Luys). Au centre, il est surplombé par le troisième ventricule et latéralement, par les couches optiques. On le divise en deux parties : l'hypothalamus antérieur ou région infundibulo-tubérienne dont

les corps cellulaires se condensent en huit formations grises distinctes et l'hypothalamus postérieur, dont les rapports avec le complexe hypophyso-pituitaire sont déjà plus lointains.

Du point de vue systématique, les fibres nerveuses hypothalamiques peuvent se classer en plusieurs groupes :

— Des voies d'association homolatérales ou hétérolatérales.

— Des voies afférentes sensorielles et sensitives, corticales ou sous-corticales, par lesquelles la vie cérébro-spinale peut se répercuter sur la vie végétative.

— Des voies efférentes qui gagnent soit les centres végétatifs sous-jacents du névraxe, soit le complexe hypophyso-pituitaire (faisceau hypothalamo-hypophysaire) pour contribuer à son innervation en même temps que les fibres venues du ganglion cervical supérieur par la voie péri-vasculaire.

III. — HISTOPHYSIOLOGIE

La colloïde, les lipoïdes, le glycogène et le pigment post-hypophysaire sont les seuls produits d'élaboration décelables dans les tissus du complexe hypophyso-pituitaire par les méthodes tinctoriales de l'histologie. La signification des lipoïdes et du gycogène est encore inconnüe. Le pigment post-hypophysaire, dérivant de cellules éosinophiles de migration, est repris par les cellules névrogliques de la neuro-hypophyse, donc il semble avoir un rôle physiologique, mais c'est tout ce que l'on peut en dire.

Par contre la colloïde, bien mieux connue, serait formée d'après Collin par un processus de fonte holocrine des cellules glandulaires. Elle représente normalement un produit de déchet de la désintégration cellulaire ; le plus souvent il s'agit de la sécrétion d'une cellule en voie de dégénérescence (dégénérscence colloïde) ; elle apparaît d'abord sous forme de petits corps sphériques intra-cellulaires qui ne deviennent extra-cellulaires qu'au moment de la fonte holocrine.

De constitution chimique inconnue, la colloïde renfermerait le principe presseur ou pitressine (Lewis, Miller et Mathews)

et l'intermédine (Zondek et Krohn), mais pour Benda, Smith et beaucoup d'autres, elle se montrerait privée de tout principe actif. Il résulte de ces contradictions que l'hypothèse de Collin, selon laquelle la colloïde serait le témoin fidèle d'une activité sécrétoire importante, est loin d'être vérifiée de façon certaine.

La substance colloïde, comme, sans doute, tous les autres produits de sécrétion du complexe hypophyso-pituitaire, est susceptible de quitter son tissu d'origine par les voies sanguine, nerveuse et céphalo-rachidienne.

Le passage de la colloïde dans la circulation générale porte le nom d'*hémocrinie*. Sa réalité est démontrée par la présence du produit en cause dans le sinus veineux péri-hypophysaire et dans les sinus caverneux (Brander). Il est à noter à ce sujet que la cellule entière pénètre dans le capillaire où elle est rapidement détruite pour donner la colloïde.

Le deuxième processus excrétoire, plus spécifique du complexe hypophyso-pituitaire, est la progression par voie nerveuse ou *neurocrinie* (Edinger, 1911, Masson et Berger, 1923, Collin, 1924).

La neurocrinie ne s'applique d'ailleurs pas qu'à la colloïde et comporte en fait plusieurs modalités :

1) *La neurocrinie cellulaire* ou migration dans la neuro-hypophyse et l'hypothalamus de cellules glandulaires qui se transforment ensuite en colloïde par fonte holocrine ou en pigment par désagrégation.

2) *La neurocrinie pigmentaire* décrite par Roussy et Mosinger comme le passage dans le tissu nerveux de pigment post-hypophysaire repris ensuite par les cellules névrogliques.

3) *Le neurocrinie colloïde.* Elle peut revêtir à son tour plusieurs aspects suivant que la substance en cause gagne les noyaux végétatifs de l'hypothalamus ou le liquide céphalo-rachidien.

Dans le premier cas, ou bien la colloïde chemine le long des fibres nerveuses (*neurocrinie interstitielle*) ou bien elle atteint son but grâce au système porte hypothalamo-hypophysaire décrit par Popa et Fielding en 1930 (*hémo-neurocrinie* de

Collin). On doit cependant remarquer que le système porte de Popa n'est pas admis par tous les auteurs.

Dans le cas où l'émonctoire est le liquide céphalo-rachidien, la colloïde effectue d'abord une certaine migration par neurocrinie interstitielle, puis elle va se jeter soit dans le troisième ventricule (*hydrenphalocrinie*, constatée par Hering, 1908), soit dans le liquide des méninges sous-hypothalamiques (*méningocrinie* de Roussy et Mosinger).

De tous ces moyens d'excrétion il semble, en tenant compte du développement considérable des voies sanguines efférentes, que le plus important soit l'hémocrinie. La neurocrinie colloïde ne représenterait d'après Collin qu'une modalité excrétoire d'hyperfonctionnement. Il convient d'ajouter que la colloïde et le pigment post-hypophysaire ne sont certainement pas les seuls produits d'élaboration du complexe hypophyso-pituitaire. La réalité d'une sécrétion mérocrine produisant une ou plusieurs substances actives, solubles et non décelable par les colorants histologiques n'est pas encore prouvée de façon absolue malgré l'argument tiré de l'observation des cellules épuisées de Kraus. Il est possible que les deux modes de sécrétion, holocrine et mérocrine, coexistent et que la colloïde, produit de déchet cellulaire, joue le rôle de support colorable de produits solubles invisibles.

La question se pose maintenant de savoir si les trois types de cellules glandulaires que nous avons décrit représentent des éléments distincts, élaborant chacun des substances particulières, ou bien au contraire s'ils dérivent successivement les uns des autres au cours d'un cycle sécrétoire. D'après Collin, la cellule chromophobe ou principale, issue d'un élément embryonnaire, serait le premier stade d'une véritable lignée cellulaire. Elle donnerait, en se chargeant de granulations, la cellule éosinophile d'où dériverait en dernier lieu la cellule cyanophile. Au contraire, Biedl, Kraus, Severinghaus et d'autres, pensent que la cellule principale donne naissance d'une part aux éosinophiles, d'autre part aux cyanophiles et qu'ensuite, chaque variété chromophile présente une évolution indépendante. Il est difficile, en face de ces désaccords, et en

l'absence de tout argument formel, d'arriver à conclure de façon définitive.

Au cours de son fonctionnement physiologique, le complexe hypophyso-pituitaire subit, par fonte holocrine de ses cellules, une destruction assez intense qui doit obligatoirement être compensée par une *régénération cellulaire*. Pour Collin (1934), la régénération se ferait par le phénomène de l'endocytogénèse, ou formation d'une cellule jeune (endocyte) au sein d'une cellule chromophile (exocyte), et qui ne serait d'ailleurs qu'une forme particulière d'amitose. Pour Stutinsky (1938), la régénération aurait lieu à la fois par endocytogénèse et par différenciation à partir des amas de noyaux libres rencontrés dans les travées cellulaires. Ces amas seraient en réalité constitués de très petites cellules à type embryonnaire et à protoplasma chromophobe, d'où leur aspect de syncitium. La différenciation, centrifuge, aboutirait à la formation de cellules éosinophiles adultes à la périphérie de l'amas. Les cellules éosinophiles ainsi mises en circuit évolueraient secondairement vers le type cyanophile.

La localisation cellulaire de la sécrétion de chacun des principes actifs du complexe hypothalamo-hypophysaire a engendré de nombreux travaux sans que l'on réussisse à la déterminer de façon certaine. Ainsi, pour ce qui est de l'intermédine, Zondek et Krohn admettent son élaboration par les cellules cyanophiles du lobe intermédiaire alors que Allen et Smith, Collin et Florentin, ont essayé de démontrer qu'elle peut être sécrétée par les cellules principales du lobe antérieur.

Quant à la *réaction gravidique*, point très important d'histophysiologie hypophysaire, nous l'avons déjà étudiée dans le chapitre précédent et nous n'y reviendrons pas.

Les phénomènes de la neurocrinie colloïde nous amènent tout naturellement à envisager, à la suite de Roussy et Mosinger, la question des relations entre le complexe hypophyso-pituitaire et l'hypothalamus. Le dépistage de l'intermédine dans la région infundibulo-tubérienne et les parois du troisième ventricule (Zondek et Krohn, 1932) fournit, en même temps que la neurocrinie colloïde, un argument à la théorie d'une action

hypophyso-pituitaire sur l'hypothalamus et les autres parties du névraxe. Mais si cette hypothèse n'est pas encore bien démontrée, la réciproque semble plus évidente. L'hypothalamus contribue en effet à l'innervation du complexe hypophyso-pituitaire par le faisceau hypothalamo-hypophysaire dont les fibres prennent naissance dans les nombreux noyaux gris de l'infundibulum. Il apparaît donc que cette région contient les centres excito-sécrétoires de la neuro-hypophyse et de la glande pituitaire. Cependant le lobe antérieur serait peu influencé par les cylindraxes venant des centres hypothalamiques; il recevrait son innervation principale des fibres sympathiques issues du ganglion cervical supérieur. En résumé toutes les parties de la pituitaire et de la neuro-hypophyse seraient commandées par un double stimulus sympathique et parasympathique, mais l'action du sympathique prédominerait sur le lobe antérieur et l'action du parasympathique sur le complexe fonctionnel, sinon morphologique ou embryologique, constitué par les lobes intermédiaire et postérieur.

L'ensemble hypothalamus-hypophyse ne forme pas un tout isolé. Des connexions de la région infundibulo-tubérienne avec le reste du névraxe expliquent l'influence que peuvent avoir des facteurs nerveux très divers sur le fonctionnement de l'hypophyse ; nous trouverons entre autres un exemple de cette interdépendance dans l'observation de l'effet des excitations lumineuses de la rétine sur la sécrétion d'intermédine chez certaines espèces animales.

L'hypothalamus est par ailleurs le siège d'un travail métabolique intense en rapport avec une extraordinaire richesse vasculaire. En partant de ce fait, Roussy et Mosinger n'ont pas hésité à faire de l'infundibulum, outre une zone de conduction de l'influx nerveux, une formation douée de propriétés endocrines. Ses neurones auraient pour fonction d'élaborer un ou plusieurs médiateurs chimiques d'origine centrale influençant à distance les organes d'exécution. L'acte sécrétoire des cellules nerveuses, déjà démontré pour les éléments périphériques, a reçu le nom de *neuricrinie*. L'hypothalamus postérieur, qui contient le centre excito-sécrétoire de la médullo-surrénale est

un centre sympathique supérieur dont le médiateur chimique pourrait être l'adrénaline. L'hypothalamus antérieur, au contraire, a plutôt des fonctions parasympathiques d'où l'hypothèse que ses neurones sécréteraient de l'acetylcholine. Il est intéressant de rappeler à ce propos la production par le complexe intermédio-postérieur hypophyso-pituitaire de deux principes à effet parasympathique: l'ocytocine et l'intermédine, alors que son innervation principale est assurée par l'hypothalamus antérieur. L'élaboration du troisième principe, la vasopressine, dont l'action est de type sympathique, serait sous l'influence de l'innervation secondaire de la région par le ganglion cervical supérieur.

CHAPITRE III

LE MÉLANOPHORE

Le travail expérimental que nous présentons ici est basé sur l'observation microscopique du mélanophore chez *Rana esculenta* hypophysectomisée. Nous avons donc jugé indispensable de rappeler ce que l'on sait aujourd'hui du point de vue morphologique et physologique sur ce type particulier de cellule pigmentaire. Il existe, en effet, dans l'épaisseur de la peau de grenouille et chez d'autres espèces animales trois types de cellules à pigment d'origine mésenchymateuse. On les a groupés sous le nom général de chromatophores ou chromatocytes. Ces deux termes, considérés par certains comme des synonymes, ont en réalité une signification différente. Un chromatocyte, d'après VERNE, est une cellule qui élabore elle-même le pigment qu'elle renferme et qui, par conséquent, est douée d'activité sécrétoire. Le mot chromatophore indique simplement que la cellule envisagée contient du pigment sans tenir compte de l'origine endocellulaire ou exocellulaire de ce pigment. En l'absence de faits suffisamment certains sur la localisation exacte de la pigmentogénèse, nous désignerons les diverses cellules pigmentaires sous le nom de chromatophores.

I. – ETUDE MORPHOLOGIQUE

A. — CHEZ LES BATRACIENS

Comme nous l'avons déjà dit, les chromatophores du tégument des batraciens peuvent se classer en trois groupes :

1) *Les guanophores* (iridocytes, leucophores, guaninocytes de certains auteurs). — Ce sont des cellules d'aspect blanc brillant à l'ultra-microscope dont le cytoplasme renferme un noyau plus clair et des substances puriques voisines de la guanine (Hadjioloff — d'après S. Besson). Leur forme est irrégulière avec des expansions plus ou moins importantes. Ils sont localisés dans le derme.

2) *Les lipophores,* cellules ramifiées et enchevêtrées au point de prendre une apparence anastomotique, entourent les orifices glandulaires et sont également situées dans le derme.

Ils renferment des pigments jaunes ou rouges que l'on appelait autrefois des lipochromes, d'où leur nom de lipophores.

3) *Les mélanophores.* – Ce sont les cellules noires à mélanine qui nous intéressent plus particulièrement. — Les premières descriptions en ont été données par Lister, en 1857, puis par Muller (1860). Leur étude fut reprise plus récemment par Fischel (1920), Schmidt (1917 et 1921), Millot (1923), Elias (1936-37) et S. Besson (1944).

Ces éléments cellulaires, bourrés de grains de mélanine, ont un aspect circulaire ou ramifié suivant leur état physiologique. Leur cytoplasme, peu visible car il est masqué par le pigment, contient au moins un noyau. Suivant leur répartition topographique, on en distingue deux types : les mélanophores dermiques et les mélanophores épidermiques.

— *Les mélanophores dermiques* apparaissent très visiblement à l'examen microscopique par transparence de la membrane interdigitale de la patte postérieure de l'animal. De couleur noire foncée, ils tranchent nettement sur le champ éclairé. Leur forme est très variable. Tantôt ils se présentent comme une petite masse arrondie ou ovalaire de pigment homogène très concentré, tantôt ce sont des cellules plus ou moins rameuses qui, dans certains cas, semblent former avec leurs voisines un réticulum continu. Cependant il est admis à l'heure actuelle qu'il ne s'agit là que d'une apparence ; les expansions d'un mélanophore n'ont jamais que des rapports de contiguïté et non de continuité avec celles des cellules voisines (Kahn, 1922 ; Hewer, 1923 ; Himmer, 1924 ; Elias, 1936 ; Besson, 1944).

Entre un élément totalement contracté et un autre totalement dilaté, on peut, bien entendu, trouver toutes les formes de passage. Aussi, dès 1857, Lister avait-il éprouvé le besoin de distinguer quatre *stades mélanophoriques :* punctiforme (contraction complète), irrégulièrement globuleux, étoilé (états intermédiaires) et enfin réticulé (expansion maximum).

Hewer, en 1923, estimant imprécise la description des quatre stades de Lister, distingue cinq états dans le comportement des mélanophores et attribue à chacun d'eux un symbole numérique. Ces chiffres sont bien évidemment arbitraires mais ils ont l'avantage, s'ils sont reconnus par tous, de permettre, quel que soit le lecteur, la traduction universelle de l'état physiologique des cellules observées. Hewer représente l'extrême contraction par le chiffre — 2 et l'expansion maximum par le chiffre + 2 ; la position moyne est 0. Ainsi lorsqu'un mélanophore complètement contracté s'étale progressivement jusqu'à l'expansion totale, il passe successivement par les états — 2, — 1, 0, + 1, + 2. On remarque tout de suite que dans ce procédé les stades de contraction et de semi-contraction sont représentés par des chiffres négatifs et les stades de semi-expansion et d'expansion par des chiffres positifs. Les états dits d'éclaircissement et ceux dits d'assombrissement sont donc nettement séparés et il existe entre eux une position d'équilibre. Ce fait semble impliquer

l'idée que la fonction mélanophorique est régie par deux processus antagonistes, l'un constricteur, l'autre dilatateur. La notation de Hewer recouvre ainsi une hypothèse physiologique dont la réalité est critiquée par de nombreux auteurs.

Pour éviter cela, Hogben et Slome (1931), tout en s'inspirant de la méthode chiffrée de Hewer, définissent chez le *Xenopus Laevis* 5 stades mélanophoriques et enlèvent à la notation toute signification physiologique en désignant la contraction maxima par le chiffre 1 et l'expansion totale par le chiffre 5 ; les chiffres 2, 3 et 4 représentent les états intermédiaires. Ce procédé a l'avantage, en plus de sa neutralité doctrinale, de permettre beaucoup plus aisément le calcul d'un index mélanophorique à l'image exacte de l'état global d'un groupe disparate de mélanophores. Nous reviendrons d'ailleurs sur cette question, ainsi que sur la description exacte des 5 stades d'Hogben, à propos de la pratique du test des mélanophores tel que nous l'avons employé. Nous avons, en effet, adopté la notation de Hogben et Slome pour les raisons exposées plus haut, suivant en cela un grand nombre d'auteurs anglo-saxons et quelques auteurs français (Bentejac, 1938; Enami, 1939; Gineste et Coupain, 1913; Servantie, Cambar, Moretti et Bonnal, 1947).

Parfois, lorsque le mélanophore dermique est particulièrement bien étalé, on peut observer que les grains de mélanine ont complètement quitté le corps cellulaire pour aller remplir les expansions ; on peut alors apercevoir le noyau. D'autres fois, l'examen de la membrane interdigitale de certains animaux montre des fragments irréguliers de substance mélanique beaucoup plus petits que les mélanophores et groupés en plages plus ou moins circonscrites. Ces fragments semblent provenir d'une lyse des cellules pigmentaires quoique Vilter en fasse un phénomène de clasmatose réversible.

— *Les mélanophores épidermiques.* — A l'examen microscopique à l'objectif fort (n° 6) ils apparaissent dans un plan plus superficiel que les mélanophores dermiques. Ce sont des petites cellules à mélanine, sphériques ou polygonales, avec ou sans expansions. Ils se montrent moins abondants, moins foncés et

surtout bien plus petits que leurs homologues du derme ; lorsqu'ils ont des expansions, elles sont plus fines, plus longues et plus rares.

Il est intéressant de signaler dès maintenant que l'*état fonctionnel des mélanophores épidermiques* n'est pas forcément le même que celui des mélanophores dermiques. Il est fréquent, en particulier chez les grenouilles hypophysectomisées, d'observer une dilatation des cellules à mélanine de l'épiderme, alors que celles du derme sont toutes contractées. Nous n'épiloguerons pas sur le mécanisme déterminant ce phénomène car lors de l'établissement des index mélanophoriques, nous ne faisons jamais entrer en ligne de compte les mélanophores épidermiques.

Enfin, dans un autre ordre d'idées, S. Besson a signalé que ces éléments cellulaires étaient susceptibles de laisser échapper par l'extrémité de leurs expansions — lorsqu'ils en ont — des grains de mélanine qui sont ensuite repris par les cellules épidermiques non pigmentaires. Ce fait semblerait impliquer la participation des mélanophores épidermiques au processus de la mélanogénèse (sécrétion pigmentaire interstitielle de S. Besson) et en ferait alors *des mélanocytes* au sens physiologique que Vilter accorde à ce terme.

La répartition des mélanophores dermiques et épidermiques chez les batraciens présente certains points particuliers. Dietel et d'autres ont signalé les corrélations de voisinage qui existent entre les mélanophores dermiques et les vaisseaux, au point que, lorsqu'ils sont étalés, ils dessinent tout le réseau vasculaire. De plus, un simple examen microscopique du tégument montre que les cellules à mélanine sont plus abondantes sur le dos que sur le ventre (polarité dorso-ventrale). Elles sont également plus nombreuses dans les taches que dans les intertaches.

La polarité dorso-ventrale s'accompagne d'ailleurs de variations dans la vitesse réactionnelle : sous l'action d'un agent mélanophoro-constricteur, les mélanophores ventraux se contractent plus vite que les dorsaux car leur excitabilité est plus grande.

B. — CHEZ LES MAMMIFÈRES

Chez les mammifères et plus particulièrement chez l'homme, les cellules pigmentaires à mélanine sont dermiques et épidermiques, non différenciées, et bien moins actives que chez les batraciens. La mélanine est contenue dans les cellules cylindriques de la couche basilaire et dans les cellules dendritiques de LANGERHANS. Il existe en outre chez l'homme quelques éléments pigmentaires ayant la même origine mésenchymateuse que chez les batraciens. Ce sont les mélanocytes de la choroïde et de l'iris, les cellules des naevis bleus ou taches ardoisées lenticulaires apparaissant sur le visage de certains enfants et, enfin, les cellules à pigments de la tache mongolique sacro-coccygienne des nouveau-nés japonais et mongols (d'après BENTEJAC).

Pour VILTER (1935), il y aurait *identité anatomique et fonctionnelle entre les cellules de* LANGERHANS *et les mélanophores dermiques des batraciens.* L'implantation sous la peau de l'oreille d'un lapin d'un petit sac de collodion contenant de la poudre d'hypophyse provoquerait une hyperpigmentation localisée. Cette expérience est pour VILTER la démonstration de l'identité fonctionnelle entre le mélanophore et la cellule de LANGERHANS. Il est suivi dans cette hypothèse par WATRIN (1934) qui réussit à provoquer chez l'homme la repigmentation de plaques de vitiligo par l'injection sous-cutanée d'extrait post-hypophysaire.

Par ailleurs l'hyperpigmentation mélanique observée dans la maladie d'ADDISON ne manque pas d'être intéressante à considérer si l'on envisage les rapports chimiques et physiologiques possibles entre l'adrénaline, la mélanine et l'hormone mélanotrope. Enfin, il est courant de noter au cours de la grossesse une hyperpigmentation cutanée (chloasma des femmes enceintes) qui fait penser à une relation entre l'hyperfonctionnement gravidique du lobe antérieur de la pituitaire et une hypersécrétion associée d'hormone mélanotrope augmentant la mélanogènèse au niveau des cellules de LANGERHANS.

Il semble donc au premier abord que VILTER ait quelques rai-

sons d'assimiler les dites cellules aux mélanophores des batraciens. Malheureusement les faits expérimentaux ne sont pas toujours en accord avec cette hypothèse. Ainsi, le phénomène d'hyperpigmentation cutanée décrit par l'auteur chez le lapin, après vérification par G.-F. Moretti (1947), ne paraît pas exact. En effet, des sacs de collodions contenant 4 cc. d'une solution d'hormone mélanophorique, dosée à 10 unités internationales d'intermédine de Zondek par cc., ont été implantés sous la peau du ventre de quatre lapins. Aucun changement de teinte n'est survenu après 1 mois. Des coupes ont été pratiquées sur des fragments de peau prélevés au 10e, 20e et 30e jour. Après dopa-réaction, il n'a pas été relevé de différence entre ces prélèvements et d'autres effectués avant l'implantation.

Zondek, utilisant le test des érythrophores sur *Phoxinus Laevis*, n'a pas dépisté davantage d'intermédine chez les nègres que chez les blancs.

Le test des mélanophores sur la grenouille hypophysectomisée, effectué sur des urines d'Addisoniens par Servantie et Moretti, puis par l'Epée, s'est révélé constamment négatif. Nous l'avons toujours trouvé positif sur l'urine de femmes enceintes, mais il ne nous a jamais été possible d'observer une intensité réactionnelle plus forte chez les femmes très pigmentées que chez celles qui ne présentaient pas de chloasma.

En dehors des divers arguments expérimentaux que nous venons de montrer contraires à l'hypothèse de Vilter, certaines constatations d'ordre plus général renforcent dans notre esprit la pensée qu'on doit la rejeter, tout au moins dans l'état actuel de nos connaissances. Le mélanophore dermique de la grenouille est l'élément effecteur d'un système mimétique dont la mise en action constitue la *fonction d'homochromie mobile*. Cette cellule est contractile et fortement différenciée du point de vue morphologique et fonctionnel. Il nous paraît difficile de la comparer avec la cellule de Langerhans du système pigmentaire de l'homme qui est fixe et dans laquelle le pigment ne constitue qu'une surcharge occasionnelle.

II. — PHYSIOLOGIE DU MÉLANOPHORE

A. — MÉCANISME DES MOUVEMENTS DU MÉLANOPHORE

(*Mélanocinèse de* STUTINSKY.)

LISTER (1857), puis SCHMIDT (1921) ont décrit les premiers dans le cytoplasme des mélanophores de batraciens et de reptiles une petite formation granulaire ou en bâtonnet, colorable par l'hématoxyline et visible lorsque le pigment ne la recouvrait pas. Ils lui ont attribué la valeur d'un centrosome doué d'une force attractive ou répulsive à l'égard des grains de mélanine.

BAKOWSKI (1912) a lui aussi observé cet appareil central chez *Rana Esculenta* après dépigmentation et coloration par la méthode de HEIDENHAIN. Il pense également qu'il s'agit là d'un organe pigmento-moteur, quoique MATTHEWS ait montré, en 1931, que dans une expansion séparée par section chez *Fundulus*, les granules continuent à se disperser ou à se concentrer sous l'influence d'agents actifs et que par conséquent la centrosphère ne joue pas un rôle primordial dans la motricité de la cellule et du pigment.

Deux théories sont en présence au sujet du mécanisme intime des diverses modalités cinétiques du mélanophore. *L'une admet que la cellule pigmentaire est douée d'amœbisme;* cette conception se traduit dans le langage par les termes de contraction et de dilatation. *La deuxième théorie considère le mélanophore comme une cellule fixe* dont les expansions sont pré-formées et servent de canalisations inertes à une migration centripète ou centrifuge des grains pigmentaires ; on dit alors concentration au lieu de contraction et dispersion au lieu de dilatation ou expansion.

LISTER (1857), BIEDERMANN (1892), BALLOWITZ (1893), SCHMIDT (1921), HERRICK (1933), critiquent la théorie de l'amœbisme, car

ils auraient mis en évidence, avec ou sans coloration, des expansions apigmentées du mélanophore. A cela Hoocker objecta, dès 1913, qu'il ne s'agit peut-être que de cavités formées par les mailles du tissu conjonctif à l'intérieur desquelles se déplacent les prolongements cellulaires. Dautre part, S. Besson signale que les dessins publiés par Schmidt montrent à peine de petits cônes de cytoplasme dépourvu de mélanine et jamais de longues expansions.

Ainsi, l'argument principal des partisans de la migration pigmentaire apparaît singulièrement affaibli. Par contre, de nombreux faits expérimentaux militent en faveur de la théorie de l'amœbisme.

Pour Spaeth (1916), M^lle Beauvallet (1935), Shen (1936-37), Bornstein (1939), *le mélanophore ne serait qu'un type modifié de cellule musculaire lisse.* Son comportement fonctionnel est en effet analogue en de nombreuses circonstances spontanées ou expérimentalement provoquées (réactions identiques à diverses excitations physiques ou chimiques). Il serait donc difficile, devant un tel état de chose, de nier la contractilité des mélanophores, c'est-à-dire l'amœbisme.

Fischel (1920), montre la migration *active* des cellules à mélanine de l'épithélium cornéen chez des larves de salamandres.

Vilter (1935) observe et photographie chez l'*Axolotl* la pénétration des mélanophores dermiques dans l'épiderme. Verne et Vilter (1935), cultivant en gouttes pendantes des écailles de poisson (*Carassius Vulgaris*), notent une migration des chromatophores dans le milieu de culture. Franz (1935-40), pourtant défenseur de la théorie de la migration pigmentaire dans une cellule fixe, admet cependant la réalité de mouvements amiboïdes chez les mélanophores *embryonnaires* de poisson. Enfin Stutinsky (1939) signale que l'expansion du mélanophore s'accompagne d'un aplatissement de la cellule qui, de globuleuse, devient discoïdale. Une telle modification de forme ne peut s'expliquer que par l'amœbisme. Koltzoff, en 1929, admit lui aussi la mobilité des cellules pigmentaires à mélanine mais tenta de concilier les deux théories : le mélanophore serait

formé d'un exoplasme périphérique dense et d'un endoplasme central fluide ; la contraction se produirait en deux temps :

1) Migration centripète des grains de pigment par variation physico-chimique de la viscosité de l'endoplasme ;

2) Rétraction des prolongements cellulaires par modifications de la tension superficielle de l'exoplasme.

Dans le cas où le mélanophore se dilate, l'expansion des prolongements se ferait en premier, suivie peu après de la dispersion centrifuge du pigment.

En conclusion, nous pouvons considérer que la théorie du mélanophore-cellule fixe apparaît comme la moins vraisemblable. L'interprétation de Koltzoff est évidemment séduisante; elle a le mérite de s'appuyer sur des phénomènes physico-chimiques auxquels on accorde aujourd'hui un rôle considérable en biologie cellulaire. Malheureusement, comme la théorie de l'amœbisme pur, elle reste dans le domaine des hypothèses encore discutées.

B. — ETAT DE REPOS DU MÉLANOPHORE

Les auteurs sont très partagés sur ce point. D'après Tornier (1908), Millot (1923), Himmer (1924), Abramowitz (1939), le mélanophore au repos est en contraction totale ; pour Spaeth (1913), Laurens (1915) et Verne (1927) le repos est au contraire le stade de dilatation maximum ; enfin Florentin (1937) et S. Besson (1944) pensent que l'inactivité de la cellule pigmentaire correspond à un état intermédiaire de demi-expansion. On voit que toutes les opinions sont représentées ! Ces discordances viennent en réalité du fait que tout le monde n'est pas d'accord sur la nature et le mécanisme d'action des agents mélanophorocinétiques.

Pour ceux qui n'admettent comme indiscutable qu'un seul facteur, l'hormone mélanotrope, le stade de repos est celui où l'action hormonale est nulle, c'est-à-dire la contraction totale. Ceux qui, avec Verne, attribuent au système nerveux une influence constrictive constante sur les mélanophores, le repos se manifeste par la suppression de cette influence, c'est-à-dire

la dilatation maximum. Enfin, l'hypothèse de deux facteurs actifs et antagonistes : hormone mélanotrope et adrénaline, implique tout naturellement que leur équilibre, amenant la semi-expansion, aboutit à l'état de repos.

Nous pensons, beaucoup plus simplement, que l'apparence d'un mélanophore au repos est celle qu'il prend après la mort de l'animal, c'est-à-dire une semi-dilatation (stade 3 d'Hogben) telle qu'on peut aussi l'observer chez une grenouille soustraite à l'influence de la lumière par obscuration totale ou énucléation bilatérale (Stutinsky).

Or on définit par ailleurs le tonus des muscles et des vaisseaux comme un état de semi-contraction permanente s'accompagnant d'une dépense d'énergie très faible et d'une *fatigue nulle*. On ne peut s'empêcher de faire le rapprochement entre cette définition et celle du repos de la cellule à mélanine telle que nous l'avons admise en dernière analyse. Il devient alors possible de parler d'un véritable *tonus du mélanophore* des batraciens (S. Besson) et de rejoindre ainsi l'hypothèse de Spaeth, assimilant la cellule pigmentaire à une cellule musculaire lisse modifiée et soutenant la théorie de l'amœbisme du mélanophore.

C. — MÉLANOPHOROGÉNÈSE ET MÉLANOPHOROLYSE

Le phénomène de contraction-expansion, dont nous venons d'étudier le mécanisme, constitue la réaction rapide du système pigmento-mimétique de la grenouille à un excitant interne ou externe ; S. Besson la désigne sous le nom de *changement de couleur physiologique* et Stutinsky sous celui de *mélanocinèse*. Mais, à côté de cela, lorsque l'excitant agit de façon durable et continue, on peut constater des phénomènes assez curieux d'augmentation ou de diminution du nombre des mélanophores et de la quantité de mélanine. Plusieurs faits expérimentaux apportent la démonstration de cet état de choses.

Babak, en 1912, Sumner et Wells, en 1933, ont observé chez des grenouilles entières, longtemps maintenues à la lumière sur fond noir, une augmentation nette du nombre des mélanophores ;

l'exposition à la lumière amènerait au contraire une diminution numérique de ces cellules.

Il nous a été donné de remarquer sur certaines de nos grenouilles, hypophysectomisées depuis plus d'un mois, des phénomènes de lyse des mélanophores de la membrane interdigitale des pattes postérieures.

Woronzowa (1929), Peredelsky et Blacher (1930-31) signalent après hypophysectomie chez l'*Axolotl* une diminution du nombre des mélanophores avec passage de la mélanine dans l'épiderme et élimination à l'extérieur.

Enfin Vilter, en 1931, montre qu'un *Axolotl*, élevé sur fond noir pendant 17 mois, contient quatre fois plus de mélanine qu'un animal de même taille, élevé sur fond blanc pendant le même temps.

Cet ensemble de faits expérimentaux constitue ce que S. Besson a nommé le *changement de couleur morphologique ;* l'augmentation des mélanophores et de la mélanine est appelée pigmentogénèse, et la diminution, pigmentolyse. Comme l'accroissement ou la chute du taux de la mélanine est vraisemblablement une conséquence de la modification dans le même sens du nombre des mélanophores, il nous a paru plus logique de désigner ces phénomènes sous les termes de *mélanophorogénèse* et *mélanophorolyse*.

CHAPITRE IV

L'HORMONE MÉLANOTROPE

L'hormone mélanotrope est le produit de sécrétion de la pituitaire provoquant l'expansion des mélanophores chez les espèces animales où ceux-ci existent. On peut encore l'appeler hormone mélanophorique, hormone mélanophoro-dilatatrice, intermédine (Zondek), hormone B ou black-hormone (Hogben). Tous ces termes désignent le même principe, aussi les emploierons-nous indistinctement l'un pour l'autre.

I. – SA DÉCOUVERTE

La découverte de l'hormone mélanotrope est une des acquisitions les plus récentes de la physiologie du complexe hypophyso-pituitaire. Elle résulte de la mise en application des deux grandes méthodes expérimentales en usage dans l'étude des sécrétions endocrines : *la méthode d'ablation* (hypophysectomie) et *la méthode substitutive* (implantation glandulaire ou injection d'extraits après hypophysectomie). Ces deux procédés ont été employés sur des espèces animales telles que les batraciens et les poissons parce que la fonction chromato-mimétique y est particulièrement développée et l'effecteur pigmentaire facile à observer.

Smith, en 1916, fut le premier à remarquer que l'ablation

de l'ébauche buccale de la pituitaire chez les têtards de grenouille s'accompagnait d'un éclaircissement notable du tégument. Peu après, Atwell (1919) constata que la peau des têtards, hypophysectomisés à la manière de Smith, reprenait sa teinte sombre primitive si on plaçait les sujets dans un extrait dilué de pars intermédia de bœuf. Allen obtint le même résultat, en 1920, en remplaçant l'action d'un extrait glandulaire par l'implantation directe sous la peau de l'animal d'un fragment du lobe intermédiaire ; la greffe de lobe postérieur demeurait, au contraire, sans effet sur la couleur du tégument.

Ainsi, dès 1920, la mise en pratique des méthodes d'ablation et de substitution montrait de façon évidente que le complexe hypophyso-pituitaire est le facteur déterminant de la pigmentation chez le têtard de grenouille ; il apparaissait également que les propriétés actives de la pituitaire dans la fonction chromatique sont localisées dans la pars intermédia.

En 1921, Swingle confirme les travaux d'Allen. L'année suivante, Hogben et Winton, dans le but de préciser la localisation de l'effet pigmento-moteur de la pituitaire procèdent à des hypophysectomies totales et partielles sur la grenouille adulte. Les résultats qu'ils obtiennent tendent à démontrer que l'élaboration du principe mélanophoro-dilatateur a lieu dans le lobe intermédiaire. Dans un même ordre d'idées, Giusti et Houssay signalent, en 1924, que l'hypophysectomie totale provoque chez le crapaud un éclaircissement dû à la rétraction des mélanophores avec expansion des guanophores et dislocation des lipophores, alors que l'ablation du lobe antérieur seul reste sans effet sur la pigmentation. Un an plus tard, Abolin, délaissant les batraciens, expérimente sur des poissons et montre que l'hormone post-hypophysaire (infundin) détermine une expansion des mélanophores et des lipophores de Phoxinus Lævis.

A partir de ce moment, les recherches portent plus particulièrement sur la localisation sécrétoire, la nature et l'isolement du produit en cause. En 1926, Dietel et Trendelenburg, observant que l'hormone post-hypophysaire avait la propriété de faire noircir la grenouille, admettent son identité avec le principe mélanophoro-dilatateur. Ils proposent même un test

quantitatif de cette hormone d'après le degré d'assombrissement de fragments isolés de peau de grenouille sous l'action de solutions titrées d'extrait post-hypophysaire.

L'hypothèse de DIETEL et TRENDELENBURG ne tarde pas à être infirmée par KAMM (1928) qui, dans une suite de très importantes recherches, réussit à isoler de l'extrait post-hypophysaire deux principes différents :

L'OCYTOCINE, ou pitocine, ou hypophamine α qui fait contracter les fibres musculaires lisses et plus particulièrement celles de l'utérus (d'où son nom).

LA VASOPRESSINE, ou pitressine, ou hypophamine β, qui possède une triple action : hypertensive, antidiurétique et chromatophoro-dilatatrice.

L'effet complexe concédé à la pitressine par KAMM est dissocié dès 1930 par HOGBEN et GORDON, qui pensent que les propriétés hypertensive d'une part et mélanotrope d'autre part sont le fait de deux principes différents.

En 1932, ZONDEK et KROHN isolent un produit dilatant les mélanophores et les érythrophores de Phoxinus Lævis. Ils donnent à cette hormone le nom *d'intermédine* et définissent une unité-Phoxinus qui leur permet de procéder à des titrages.

STEHLE, en 1934, par une technique un peu plus compliquée que celle de ZONDEK et KROHN, obtient également de l'intermédine à l'état presque pur.

L'effort des chercheurs porte alors sur l'étude de l'hormone mélanotrope et de la fonction pigmentaire chez de nombreuses espèces animales : batraciens (HOGBEN, VILTER, etc.), sélaciens (LUNDSTROM et BARD, HOGBEN, C. VEIL) et mammifères (VILTER).

II. – ORIGINE SÉCRÉTOIRE

Le nombre des travaux sur l'origine sécrétoire de l'hormone mélanotrope est considérable ; il est cependant possible d'en grouper les conclusions en deux grandes théories :

— *La théorie lobaire*, ou de localisation topographique, admettant que l'intermédine est sécrétée par une portion

histologiquement individualisée de la pituitaire ; pour les uns c'est le lobe intermédiaire, pour les autres, le lobe antérieur.

— *La théorie cellulaire*, ou de localisation cytologique, dans laquelle l'élaboration du principe mélanophorique serait le fait d'un type cellulaire défini, irrégulièrement réparti dans les diverses portions du complexe hypophyso-pituitaire.

A. — LA THÉORIE LOBAIRE

Houssay, en 1917, fut le premier à penser que l'hormone responsable du changement de couleur chez les batraciens était sécrétée par la pars intermédia de la pituitaire. En effet, chez *Bufo vulgaris* ou *Leptodactylus ocellatus*, l'ablation isolée du lobe principal ne s'accompagnait d'aucun éclaircissement de l'animal.

Atwell (1919), Hogben et Winton (1922), Zieske (1932) et Hasama (1937) en arrivent à la même conclusion après leurs expériences d'hypophysectomies partielles chez divers batraciens. Hogben, en 1936, puis C. Veil et May, en 1937, confirment ces résultats sur plusieurs espèces de poissons.

On peut objecter à toutes ces expériences que l'ablation strictement limitée à une portion histologique déterminée est difficile à réaliser de façon parfaite.

Pour éviter cet écueil, Van Dyke, dès 1926, s'est efforcé de préparer des extraits sélectifs à partir de fragments cytologiquement vérifiés des diverses parties de la pituitaire. Les résultats obtenus après l'injection de ces produits à l'animal tendent à confirmer l'hypothèse de Houssay.

Dans le même ordre d'idées, et en dehors de procédés expérimentaux artificiels, Marx (cité par Mlle Luxembourg) attire l'attention sur les dimensions exceptionnelles du lobe intermédiaire de la salamandre. Il fait le rapprochement entre cette observation et le développement considérable de la fonction d'homochromie mobile chez l'animal en question. — De même Bayer, en 1930, ayant remarqué dans un lot de grenouilles un sujet demeurant indéfiniment clair, découvrit à l'autopsie une destruction complète et sélective du lobe intermédiaire

par un trématode. Le même fait aurait été enregistré par Bonnal, en 1946.

Enfin, en 1935, Geiling et Lewis, après avoir cultivé des fragments de diverses portions du complexe hypophyso-pituitaire de rats et de souris, montrent que seuls les extraits de cultures contenant de la pars intermédia ont une action mélanophoro-dilatatrice.

Cette dernière expérience serait concluante à condition d'admettre la spécificité réactionnelle du test employé pour dépister les propriétés mélanophoriques du produit étudié. Nous verrons en effet par la suite combien il faut être prudent avant d'accorder une valeur spécifique réelle à toute une série de tests de l'hrmone mélanotrope.

D'ailleurs les extraits intermédiaires ne sont pas les seuls à posséder en toutes circonstances une action expansive sur les chromatophores.

En 1924, Hogben, puis Spaul, avaient déjà montré que des extraits frais de lobes antérieur ou postérieur de bœuf ont une action mélanophoro-dilatatrice sur la grenouille hypophysectomisée. Cependant la substance extraite du lobe postérieur a un potentiel d'activité bien plus considérable.

Roth, en 1932, s'aperçoit que l'implantation d'un fragment de lobe antérieur humain sous la peau d'une grenouille provoque son noircissement.

Les auteurs expliquent leurs résultats en admettant que l'hormone mélanotrope, sécrétée par la pars intermédia, diffuse secondairement dans les lobes antérieur et postérieur.

La théorie de la diffusion fut reprise, en 1932, par Zondek et Krohn. Utilisant leur test érythrophorique quantitatif sur *Phoxinus lævis*, ils déterminent la teneur en intermédine des diverses parties du complexe hypophyso-pituitaire. Ils trouvent que la concentration de cette substance, calculée par rapport au poids de tissu examiné, est de beaucoup la plus forte dans le lobe intermédiaire (taux 8 fois supérieur à celui du lobe nerveux et 15 fois supérieur à celui du lobe antérieur). Ils interprètent ces résultats en admettant une diffusion du

principe actif à partir de la pars intermédia, seul lieu véritable de la sécrétion.

D'après Stutinsky, la diffusion dans la pars nervosa est logiquement concevable par le phénomène de la neurocrinie interstitielle ou cellulaire. Mais la diffusion dans le lobe antérieur est d'autant plus difficile à admettre qu'elle serait particulière à l'hormone mélanotrope et ne se produirait pas pour les autres sécrétions du complexe intermédio-postérieur (principes ocytocique, vasopresseur et antidiurétique).

Aucun argument n'est donc assez fort pour permettre d'attribuer au seul lobe intermédiaire, et chez toutes les espèces animales, la sécrétion de la substance mélanophorique. Par suite, il n'est pas surprenant que de nombreux auteurs, restant malgré tout dans le cadre de la théorie lobaire, *accordent un pouvoir d'élaboration mélanotrope au lobe antérieur.*

Houssay et Ungar (1924), ayant obtenu des réactions mélanophoro-dilatatrices positives après implantation de lobe antérieur de bœuf sous la peau de batraciens, pensent que les diverses parties du complexe hypophyso-pituitaire sont susceptibles de jouer un rôle dans la pigmentation.

Par ailleurs, un certain nombre d'animaux, dépourvus de lobe intermédiaire distinct, sécrètent cependant de l'hormone mélanotrope. Il en est ainsi pour le canard sauvage (de Beer, 1926), le marsouin, la baleine (Valso, 1932-34) et le tatou (Oldham, 1938).

D'après Roth (1932), le lobe antérieur de la pituitaire humaine aurait sur les mélanophores une action beaucoup plus intense que le lobe postérieur, la teneur hormonale de la pars intermédia étant négligeable pour les raisons anatomiques que nous connaissons.

Avant d'essayer de conclure sur cet ensemble de travaux, nous allons examiner ceux qui se rapportent à la théorie cellulaire de la sécrétion mélanophorique, car les uns et les autres souffrent de la même critique générale.

B. — LA THÉORIE CELLULAIRE

Ehrardt fut le premier, en 1927, à laisser de côté la théorie lobaire pour proposer une autre hypothèse plus en accord avec ses résultats expérimentaux. Après implantation à des amphibiens de fragments histologiquement analysés des tissus du complexe hypophyso-pituitaire, il constata que l'hormone mélanotrope est surtout contenue dans les fragments riches en cellules cyanophiles. Il admit alors que l'élaboration hormonale est le fait de ce type de cellules, quelle qu'en soit la situation topographique.

Jores et Glogner, en 1933, se rallient à cette conclusion après avoir montré que l'extrait d'un adénome cyanophile de Maladie de Cushing humaine s'était révélé très actif sur les mélanophores de la peau de grenouille isolée in vitro, alors que des extraits de tumeur hypophysaire à cellules chromophobes étaient privés de tout effet mélanophoro-dilatateur.

Signalons dès maintenant qu'Ehrardt avait utilisé comme animaux-réactifs des amphibiens non hypophysectomisés et Jores et ses collaborateurs le test sur peau isolée de grenouille. Ces deux méthodes de dépistage n'ont aucune spécificité. D'ailleurs plusieurs travaux contredisent non pas la théorie cellulaire, mais l'hypothèse de la sécrétion cyanophile :

Ainsi Snyder, en 1929, montre que les cellules embryonnaires et chromophobes de la pituitaire d'embryons de porc produisent de l'hormone mélanotrope. — Collin et Florentin observent, en 1933, que l'ablation de la poche de Rathke de têtards, exclusivement constituée de cellules chromophobes, est suivie d'une contraction des mélanophores avec éclaircissement des téguments.

Il semblerait donc que l'intermédine est sécrétée par les cellules principales. Mais Snyder employait la grenouille non hypophysectomisée pour dépister le principe mélanophorique ; ses résultats ne sont donc pas plus concluants que ceux d'Ehrardt et de Jores. Quant à Collin, il enlève toute l'ébauche pituitaire, contenant *en puissance* d'une part le lobe

antérieur, le lobe intermédiaire et la pars tubéralis, d'autre part les trois types de cellules adultes ; ses expériences ne sont donc pas démonstratives.

Au terme de cet exposé, nous voyons que le problème de l'origine sécrétoire de l'hormone mélanotrope n'est pas encore résolu avec certitude.

D'une manière générale on peut dire que les résultats discordants enregistrés par les auteurs sont dus à des méthodes de détection différentes et souvent dépourvues de toute spécificité. Ce dernier point est d'importance, car il met en jeu le fondement même de l'expérimentation ; nous nous réservons d'y revenir plus en détail.

On peut malgré cela admettre comme vraisemblable que, chez les espèces où la pars intermédia est bien individualisée (batraciens, poissons), l'hormone mélanotrope y est élaborée en majeure partie. Par contre, chez les animaux où le lobe intermédiaire est très réduit, en particulier chez l'homme, il est possible que le lobe antérieur participe à l'élaboration soit par sécrétion lobaire vicariante, soit par suite du phénomène de la sécrétion cytologiquement localisée.

Il est d'ailleurs troublant de constater combien l'hypothèse d'une participation du lobe antérieur s'accorde avec l'interprétation générale des résultats que nous rapportons ici. En effet, les urines de femmes enceintes sont pratiquement les seules où nous ayons pu dépister le principe mélanophorique avec la grenouille hypophysectomisée. Par ailleurs, l'état de grossesse s'accompagne indiscutablement d'un hyperfonctionnement du lobe antérieur de la pituitaire caractérisé, nous l'avons vu, par la réaction gravidique d'Erdheim et Stumme et par l'élimination urinaire de principes gonadotropes. Il y a donc, dans le cas précis de la grossesse, un parallélisme net entre l'hyperfonctionnement du lobe antérieur et l'hypersécrétion de l'hormone mélanotrope.

III. – EXTRACTION

Nous avons vu, à propos de la découverte de l'hormone mélanotrope, qu'après son isolement par Hogben et Gordon à partir de la pitressine de Kamm, Zondek et Krohn étaient parvenus, en 1932, à préparer un produit relativement pur qui dilatait les chromatophores.

La technique primitivement employée par ces deux auteurs consistait à soumettre à l'ébullition dans l'acide acétique à 0,25 % un broyat de pituitaires. Peu après, ils la modifièrent légèrement. Le broyat organique fut effectué dans l'acetone ; après dessication, la poudre obtenue fut traitée par l'acide acétique bouillant à 0,25 %. Cette nouvelle méthode permettait d'extraire du produit de départ la presque totalité du principe chromatophoro-dilatateur.

Un peu plus tard, Jores et Lenssen (1933) montrèrent que l'intermédine de Zondek voyait son activité considérablement augmentée par un traitement approprié à la soude décinormale. Ils déduisirent de cette propriété un procédé d'extraction de l'hormone mélanotrope à partir des urines par acidification légère, adsorption sur kaolin, élution à la soude décinormale, puis neutralisation et concentration sous vide.

La technique d'extraction de Stehle (1934) aboutit à l'obtention du principe mélanophorique presque pur et privé de propriétés hypertensive et ocytocique, contrairement à l'intermédine de Zondek. De la poudre de post-hypophyse est traitée par l'alcool éthylique et l'acide acétique. Le mélange est distillé sous vide à la température de 50°. Le résidu de distillation est additionné d'alcool méthylique puis, après centrifugation et décantation, le culot est agité avec de l'acétate d'éthyle et asséché sous vide. — La poudre ainsi obtenue serait 25 fois plus active que le produit de départ.

Enfin Landgrebe et Waring proposèrent, en 1941, d'extraire l'hormone mélanotrope par un procédé physique, évitant ainsi des actions chimiques brutales susceptibles d'altérer sa molécule.

De la poudre de lobe postérieur, en solution dans l'eau distillée, est soumise à l'ébullition puis filtrée. Le filtrat est agité avec du charbon animal fraîchement activé. Après filtration du mélange et lavage du charbon sur filtre, on fait l'élution au phénol pur à la température de 50°c. La solution phénolique est filtrée à l'étuve puis additionnée d'acétone ; le précipité formé est séparé par centrifugation puis desséché. — D'après les auteurs eux-mêmes, ce procédé ne permettrait d'extraire que 25 % du principe mélanophorique contenu dans la poudre dont on est parti. Mais par contre le produit obtenu serait très pur et privé en particulier de toute action ocytocique, hypertensive ou antidiurétique.

Signalons dès à présent que l'application de la technique de Landgrebe et Waring aux urines de femmes enceintes, dans un but de concentration de l'hormone mélanotrope, nous causa beaucoup de désillusions. Nos échecs montrent donc qu'il est nécessaire de partir d'une substance très riche en hormone.

PHÉNOMÈNE D'ACTIVATION

Sous l'action de la soude décinormale l'hormone mélanophorique a son action augmentée *dans son intensité et dans sa durée* (Bottger, 1937; Landgrebe et Waring, 1941). Ce phénomène réclamait une explication.

Hogben et Gordon observèrent, en 1930, que le traitement par la soude de la vasopressine de Kamm avait pour double résultat de lui faire perdre ses propriétés hypertensives et de renforcer son action mélanophoro-dilatatrice. Ils pensèrent alors que le principe presseur était un inhibiteur de l'hormone mélanotrope et que la soude agissait indirectement en le détruisant.

Cette hypothèse fut par la suite reconnue inexacte lorsque l'on s'aperçut que l'extraction alcoolique éliminait l'hormone hypertensive sans augmenter l'action mélanophorique de l'extrait (Stehle, 1934).

Entre temps, Koller et Rodewald (1933) avaient démontré que des extraits de pituitaires de grenouilles obscurées, effectués

avec le liquide de Ringer ou l'acide acétique, étaient moins actifs sur les mélanophores que ceux de pituitaires d'animaux exposés à la lumière. Jores et Will (1934), puis Jores et Hoeltz (1936) confirmèrent ces résultats mais signalèrent que l'extraction à la soude décinormale supprimait la différence d'activité entre les deux catégories d'extraits. Ils en conclurent que la pituitaire des animaux obscurés contient *une pré-hormone* susceptible d'être transformée en hormone active par la lumière in vivo et par la soude décinormale in vitro.

Après confirmation des travaux de Jores et de ses collaborateurs, Kleinholtz et Rahn se rallient à la même conception en 1940. Quant à la cause intime de l'activation hormonale, elle résiderait vraisemblablement dans une modification chimique de la molécule du pré-produit (Jores et collaborateurs ; Bottger, 1937 ; Stehle, 1936-38).

La théorie de Jores, extrêmement séduisante, demande à être vérifiée de façon très rigoureuse, car plusieurs auteurs, et en particulier Landgrebe et Waring, ont tendance à la rejeter sans toutefois l'infirmer expérimentalement.

IV. – PROPRIÉTÉS ET NATURE

L'hormone mélanotrope telle que l'ont préparée les auteurs précédemment cités est une poudre blanche et amorphe dont les *propriétés physiques* sont assez bien connues.

Elle est immédiatement soluble dans l'eau chaude et, jusqu'à une forte concentration, soluble dans l'eau froide. *L'alcool absolu à chaud constitue également un excellent solvant,* mais à froid il est moins actif. Cette dernière propriété est assez particulière à l'intermédine, car toutes les autres hormones du complexe hypophyso-pituitaire sont précipitées par l'alcool. Le benzène et le chloroforme ne l'admettent en solution que jusqu'à une concentration de 5 %. Enfin, elle est insoluble dans l'éther, l'acétone et les esters acétiques.

Le kaolin, le charbon animal activé et l'alumine sont d'excellents adsorbants du principe mélanophorique. Par contre, la

magnésie calcinée, rangée par Zondek et Krohn parmi les adsorbants de l'hormone mélanotrope, nous est apparue dépourvue de toute propriété de cet ordre.

In vitro, l'intermédine est détruite par la lumière, mais elle résiste à l'ébullition (Zondek et Krohn) ; le rayonnement ultraviolet d'une lampe à vapeurs de mercure l'anihile en une demi-heure (Oldham, Calloway et Geiling, 1941). Elle est difficilement dialysable, mais pénètre à travers les membranes plus vite que les autres hormones post-hypophysaires.

En ce qui concerne les *propriétés chimiques*, nos connaissances sont beaucoup plus restreintes.

On sait que l'hormone mélanotrope est rapidement détruite par les acides concentrés à chaud et que les acides faibles la détruisent aussi mais moins vite.

Elle résiste assez bien aux alcalis à froid, contrairement à l'ocytocine et à la vasopressine (élimination de ces deux derniers principes par la soude).

La trypsine brise facilement sa molécule ainsi que la digestion pepsique en milieu chlorhydrique; la pitocine et l'hormone hypertensive sont également attaquées par la trypsine mais résistent à la pepsine.

L'hormone mélanotrope serait une substance chimiquement proche des albumines ou des peptides. Elle donne une réaction positive avec le test nitrogène pour les protéïnes (d'après Landgrebe et Waring). Ceci peut signifier ou bien que la préparation est impure et souillée par des protéïnes étrangères, ou bien que l'intermédine est intimement unie à un complexe protéïque, tout en étant de nature différente, ou bien, enfin, qu'elle est assimilable à une protéïne.

V. — INDIVIDUALITÉ - ROLE PHYSIOLOGIQUE

A. — HORMONE MÉLANOTROPE ET PRINCIPE ERYTHROPHORIQUE

On s'est demandé, et l'on se demande encore, si l'action de l'intermédine de Zondek sur les érythrophores et les mélanophores est le fait d'une seule hormone ou de deux substances

différentes. Zondek et Krohn, après avoir observé simultanément cette double action chez *Phoxinus lævis*, n'émettent aucune opinion à ce sujet.

Pour Jores et Lenssen (1933), puis Jores et Will (1934), il y aurait un principe mélanophoro-dilatateur et un principe érythrophoro-dilatateur distincts. En effet, l'ébullition de l'intermédine avec de la soude a pour résultat d'augmenter le potentiel mélanophorique et de diminuer le potentiel érythrophorique. Par ailleurs, l'ébullition de lobes postérieurs hypophysaires permettrait d'extraire l'hormone érythrophorique et laisserait l'hormone mélanotrope dans le résidu.

Ces résultats semblent prouver la dissociation et la non identité des deux produits actifs, mais n'oublions pas que le test mélanophorique de Jores sur la peau isolée de grenouille n'est pas sûr.

Rodewald, en 1935, observa que des extraits de pituitaires de grenouilles obscurées provoquaient une faible réaction mélanophoro-dilatatrice sur des batraciens et une réponse érythrophorique beaucoup plus forte sur le vairon.

Le reproche que l'on peut faire à cette expérience réside dans les difficultés d'une comparaison *quantitative* correcte entre l'effet sur les mélanophores de la grenouille et la réaction des érythrophores chez le vairon. De plus, l'observation de Rodewald peut n'être que la traduction d'un simple phénomène de seuil.

Nous verrons dans la suite que les urines de femmes enceintes contiennent indubitablement, et de façon constante, un principe dilatant les mélanophores de la grenouille hypophysectomisée. Or, Zondek et Krohn ont toujours trouvé que de telles urines étaient dépourvues d'effet érythrophorique. Nous avons donc là une contradiction qui ne peut s'accorder avec l'hypothèse d'une hormone unique agissant simultanément sur les mélanophores et sur les érythrophores. Malgré cela, on ne peut pas affirmer la dualité hormonale car le test de Zondek est très critiqué, et Stutinsky a même mis en doute la spécificité du phénomène de l'expansion érythrophorique chez les poissons. Par suite, nous pouvons dire, avec Oldham, Calloway et Geiling (1941)

que le problème des rapports d'identité ou de différence entre l'hormone mélanotrope et le principe érythrophorique reste encore à l'ordre du jour.

Nous devons maintenant nous préoccuper de savoir si l'hormone mélanotrope est une substance à fonction unique (mélanophoro-dilatation) ou à fonctions multiples. Autrement dit, puisqu'on la dépiste chez des animaux dépourvus de tout appareil d'homochromie mobile, il s'agit de savoir si dans certaines espèces, et en particulier chez l'homme, cette hormone représente une sécrétion inutile ou si, au contraire, elle est susceptible de s'intégrer dans d'autres mécanismes que le mimétisme pigmentaire.

La question est en pleine étude et les travaux que nous rapportons restent encore fragmentaires. Notre seul but est d'essayer de montrer l'intérêt que peut susciter ce point particulier.

Un certain nombre d'auteurs ont pensé, avec Geiling (1935) et Stehle (1938), que si l'intermédine est responsable de quelques effets des extraits post-hypophysaires totaux, c'est dans l'étude des multiples actions de la pitressine de Kamm qu'il convient de les rechercher. Or, ce principe influence la pression artérielle, le péristaltisme de la partie inférieure de l'intestin, les contractions utérines, l'expansion des mélanophores, la sécrétion d'urine et le métabolisme de l'eau, la glycémie et la consommation d'oxygène.

Son effet mélanophorique n'est pas celui qui nous intéresse ici. De plus, depuis les travaux d'Hogben et Gordon (1930), de Stehle (1934), de Landgrebe et Waring (1941) et de bien d'autres, on sait qu'il est possible de préparer une hormone mélanotrope privée d'effets hypertenseur, ocytocique ou péristaltique; elle est par conséquent bien différente des substances responsables de ces diverses actions. Il nous reste donc à étudier les rapports éventuels de l'intermédine avec le principe antidiurétique d'une part et une hormone métabolique plus ou moins hypothétique d'autre part.

B. — INTERMÉDINE ET PRINCIPE ANTIDIURÉTIQUE

En 1936, M. Sulzberger parvint à améliorer nettement deux malades atteints de diabète insipide par des injections d'une préparation d'intermédine de Zondek. De leur côté, Dietel (1934) et Bottger (1936) constatent que l'intermédine détermine un effet oligurique chez les animaux. La conclusion logique de cet ensemble de remarques fut l'hypothèse d'une identité possible entre l'hormone mélanotrope et le principe antidiurétique.

On pensa, par la suite, que l'action oligurique de l'intermédine était peut-être due à la présence, parmi les impuretés, d'un peu de pitressine. Mais Hoechst (cité par Bentejac) démontra que l'influence de l'intermédine et de la pitressine sur le métabolisme de l'eau n'est pas superposable. La pitressine réduit le volume des urines et augmente l'excrétion du chlorure de sodium alors que l'intermédine provoque de l'oligurie, mais n'a aucune action sur l'élimination des sels.

Ainsi, la dualité hormonale semblait démontrée, lorsque Heller, en 1940, montra que l'effet antidiurétique était provoqué par une substance séparable de la pitressine par sa résistance à la chaleur et, par conséquent, *semblable en ce point à l'hormone mélanotrope*. Landgrebe et Waring apportèrent un élément contradictoire supplémentaire en isolant, par leur méthode au charbon, une hormone mélanotrope dépourvue d'action antidiurétique (1941).

Le moins qu'on puisse dire, en présence de tous ces faits, est que la question n'est pas au point et que sa solution définitive nécessite de nouvelles recherches.

C. — INTERMÉDINE ET GLYCÉMIE

D'après Zondek et Krohn, l'intermédine n'aurait aucun effet sur la glycémie. Au contraire, d'après Jores (1935), l'injection d'une préparation mélanophorique extraite à la soude provoque une chute de température *et une élévation de la glycémie*.

Mais l'intermédine de Zondek et l'extrait de Jores ne repré-

sentent pas le principe mélanophorique à l'état pur, on ne peut donc pas conclure sur ces expériences.

D. — HORMONE MÉLANOTROPE ET MÉTABOLISME

O'Donovan et Collip (1938) observent une stimulation métabolique immédiate après injection à des mammifères d'un extrait riche en hormone mélanophorique. Le principe en cause serait différent des autres hormones du complexe hypophysopituitaire mais voisin de l'intermédine *par sa résistance aux alcalis.*

L'hypothèse ainsi posée ne tarde pas à être infirmée par Teague (1939) qui obtient, avec des extraits riches en intermédine, préparés à partir de sources variées par des procédés variables, des effets absolument discordants sur la consommation en oxygène chez le rat. De plus, un extrait de lobe postérieur, dans lequel on a détruit le principe mélanophorique par digestion pepsique, se révèle plus actif sur le métabolisme qu'un extrait entier. Enfin, l'auteur note également que des injections d'extraits de foie ou de rein peuvent provoquer une stimulation du métabolisme.

Dans le même ordre d'idée, Denstedt et Collip, en 1940, préparent divers extraits hypophysaires dont les propriétés mélanophorique et métabolique sont complètement dissociées.

Il ne semble donc pas qu'il y ait identité entre l'hormone mélanotrope et le principe métabolique mis en évidence.

Cependant Fostvedt (1939-40) montre que le système tyrosine-tyrosinase est accéléré in vitro par l'hormone mélanotrope. Or, Teague, en 1939, et Sumner, en 1940, signalent que ce système consomme de l'oxygène pour aboutir à la production de mélanine. *Si ce phénomène se produit également in vivo,* il permet d'expliquer que l'injection d'intermédine puisse s'accompagner à la fois d'une augmentation de la consommation d'oxygène (O'Donovan et Collip) et d'une augmentation de la mélanogénèse (Vilter) [1].

(1) Nous avons rapporté les expériences de Vilter à ce sujet dans le précédent chapitre.

Il serait ainsi possible que l'hormone mélanotrope intervienne, chez l'homme, dans le métabolisme de la mélanine.

E. — HORMONE MÉLANOTROPE ET SEXUALITÉ

Waring (1936) et Masselin (1939) ont observé que la richesse en hormone mélanotrope de la pituitaire de grenouille et de crapaud subit une variation saisonnière avec une chute importante au mois de mars, époque d'activité sexuelle maxima.

Stutinsky (1939) étudie le comportement de *Rana temporaria*. Il note qu'avant l'accouplement, les mâles sont très sombres et les femelles claires. Ce contraste persiste après l'accouplement jusqu'à la ponte. Par contre, dès le début de celle-ci, les femelles noircissent intensément et restent noires pendant plusieurs jours *sans que les conditions extérieures aient changées*. En même temps, il se produit des modifications cytologiques dans la pituitaire.

Ainsi, la ponte chez la grenouille détermine une hypersécrétion d'hormone mélanotrope et une réaction histologique de la pituitaire. Sans conclure de façon définitive, nous remarquons cependant les possibilités de rapprochement entre les phénomènes décrits par Stutinsky chez la grenouille et nos propres observations sur la femme enceinte.

VI. – TITRAGE

En dehors de multiples procédés qualitatifs pour le dépistage de l'hormone mélanotrope, quelques tentatives ont été faites en vue de son titrage.

Nous devons la première à Hogben et Winton (1922). Ils injectent des doses croissantes de substance mélanophorique à des groupes de grenouilles normales ou hypophysectomisées ; ils chiffrent ensuite les réponses d'après trois stades numériques d'expansion des cellules à mélanine. La méthode manquait de précision, c'est pourquoi, en 1930, Hogben et Gordon l'améliorent en distinguant cinq stades de dilatation au lieu de trois.

L'intensité de la réponse ainsi déterminée est comparée au temps de lecture et à la quantité de substance injectée. Le procédé d'Hogben est excellent, il emploie un animal-test hypophysectomisé, par conséquent spécifique, et le système de numération est commode et précis.

Zondek et Krohn, en 1932, proposent cependant une autre méthode de titrage de l'intermédine, à l'aide du test des érythrophores sur le vairon *(Phoxinus lævis). L'unité-Phoxinus, ou unité-vairon, ou* P. E. (Phoxinus Einheit des auteurs) *est la plus petite quantité d'intermédine susceptible de provoquer, chez un vairon de 6 cm 5 à 7 cm 5 de long, l'apparition d'une tache rouge de 4 à 9 mm², une demi-heure après l'injection, au point d'insertion des nageoires thoraciques, abdominales et anales.* A l'aide de cette unité, Zondek et Krohn ont dosé l'hormone mélanotrope dans les différents tissus et humeurs de l'organisme. Malheureusement, le test érythrophorique est très critiqué et nous allons voir que les résultats qu'il donne sont la plupart du temps à l'opposé de ceux qui sont obtenus par d'autres procédés.

Les tentatives de titrage sur pattes de grenouille isolées (Mc. Lean, 1928 ; Krohn, 1934) et sur peau de grenouille isolée (Loew et Illson, 1925) n'ont aucune valeur et ne doivent pas être retenues. Par contre, la méthode décrite par C. Veil, en 1938, mérite un peu plus d'attention. Un poisson-chat, devenu foncé par exposition à la lumière sur fond noir, est hypophysectomisé. On mesure la durée de la décoloration post-opératoire ; on détermine ensuite par tâtonnement la quantité d'hormone qu'il faut injecter à l'animal opéré pour lui redonner le même aspect tinctorial qu'avant l'opération, dans le même temps que celui de la décoloration. Par ce moyen, C. Veil a pu démontrer que la quantité d'intermédine contenue dans 100 gr. d'animal foncé équivalait à 1/1000e de milligramme d'extrait Choay du commerce. — Le procédé a l'avantage de s'adresser à un animal hypophysectomisé, mais l'évaluation *macroscopique* des phénomènes manque de précision.

On peut faire le même reproche à la méthode de titrage de Kleinholtz et Rahn (1940) sur l'*Anolis* hypophysectomisé qui

serait plus sensible que la grenouille, mais dont la survie post-opératoire est moins longue.

Enfin LANDGREBE et WARING, en 1941, reprennent la méthode d'HOGBEN et de ses élèves en employant le *Xénopus* hypophysectomisé et les cinq stades de numération microscopique. Ils mettent en évidence la sensibilité de ce test quantitatif en montrant que 1/4 de γ (c'est-à-dire 0 mmgr. 00025) d'hormone mélanotrope, extraite par le procédé au charbon, est susceptible de dilater les mélanophores au stade 4.

VII. – LOCALISATION DANS L'ORGANISME

A. — L'HORMONE MÉLANOTROPE DANS LES TISSUS

Dès 1929, TRENDELENBURG, employant la peau isolée de grenouille comme réactif, entreprenait la recherche de l'hormone mélanotrope dans les divers tissus de l'organisme. Ses résultats demeurèrent négatifs. Il en fut de même pour EHRARDT (1932) qui avait entrepris une étude identique avec la grenouille entière comme animal-test.

ZONDEK et KROHN, la même année (1932), dépistent et titrent l'intermédine en unités-Phoxinus dans les tissus de l'hypothalamus, des parois du 3e ventricule et, d'une manière plus générale, dans les centres végétatifs. Ils la trouvent de façon inconstante dans le liquide ventriculaire et jamais dans le liquide céphalo-rachidien. Le test érythrophorique reste également négatif après l'injection d'extraits de tous les autres tissus de l'organisme.

COLLIN et DROUET, puis COLLIN et FLORENTIN, en 1933, essaient sur des grenouilles entières des extraits d'organes obtenus par la méthode de ZONDEK pour l'intermédine. Ils obtiennent des réactions mélanophoro-dilatatrices positives à partir du ganglion de GASSER, des ganglions rachidiens et de la chaîne sympathique latéro-vertébrale ; avec le myocarde, les résultats sont plus inconstants ; ils sont négatifs avec les autres organes.

Les conclusions de ZONDEK et de COLLIN sont infirmées par

Dietel (1932-34) qui, avec la peau isolée de grenouille, trouve de l'hormone mélanotrope dans des extraits de cœur, de poumon, de rein, de cerveau et surtout de foie et de tissus oculaires. A la même époque, Blinov (1934) montre la présence du facteur mélanophorique dans la salive de malades atteints de troubles psychiques. En l'absence du texte de cet auteur, cité d'après Mlle Luxembourg, il nous est impossible de spécifier la nature du réactif employé. Mlle Luxembourg, sur l'écaille isolée de cyprin, n'a d'ailleurs pas confirmé la présence de l'intermédine dans la salive, tout au moins chez les femmes enceintes.

Enfin Konsuloff, en 1934 également, découvre des propriétés mélanophoriques au colostrum. Il utilisait comme test l'évaluation *macroscopique* des changemens de couleur des grenouilles hypophysectomisées.

En dehors des critiques d'ordre général, relatives aux méthodes de dépistage employées par tous ces auteurs, nous terminerons en signalant que l'action dilatatrice de certains extraits tissulaires peut être attribuée à la présence de toxines ou d'autres substances que l'hormone mélanotrope (Oldham, Calloway et Geiling, 1941).

B. — L'HORMONE MÉLANOTROPE DANS LE SANG

L'intermédine agissant sur les mélanophores par voie circulatoire, il était tout à fait logique de la rechercher et de la trouver dans le sang. Les premiers travaux ne confirmèrent pas cette idée puisque ni Fenn (1924), ni Ehrardt (1927), ni Zondek et Krohn (1932), ni C. Veil et May (1937) ne parvinrent à dépister le principe actif dans le sang de divers animaux et de l'homme. Trois hypothèses ont été successivement proposées pour expliquer ces échecs :

— Variations saisonnières de la sensibilité de l'animal-réactif ;

— Présence dans le sang d'une substance inhibitrice ;

— Concentration insuffisante en hormone du sang étudié.

Les deux premières explications ne permettent pas de comprendre pourquoi d'autres expérimentateurs ont obtenu par

ailleurs des résultats positifs dans des conditions à peu près identiques. Par contre, la dernière hypothèse apparaît d'autant plus vraisemblable qu'on a parfois parlé de *seuil hormonal d'activité* et de loi du tout ou rien à propos de l'effet mélanophoro-dilatateur. Quoi qu'il en soit, elle permet de concevoir qu'un assez grand nombre d'auteurs aient trouvé de l'intermédine dans le sang ou le sérum.

En effet, Krogh, en 1926, obtient une expansion des mélanophores avec le dialysat de sang humain ou animal ; Kustner (1927) note un résultat identique avec du sérum d'éclamptiques ou de femmes enceintes normales ; Mc. Lean (1928), confirme entièrement les observations de Krogh et remarque en outre que du sérum de chien, concentré à 10 %, fait noircir une grenouille perfusée. Meyer (1931), Parker (1936), Abramowitz (1937), Waring (1936-38) montrent que le sang de poissons très sombres fait noircir des poissons clairs à qui on l'injecte. Parker et Scatherty (1937) réalisent l'assombrissement de grenouilles claires en leur injectant du sang de grenouilles noires, le sang de grenouilles claires restant inactif.

Dietel, en 1933, décrit l'effet mélanophoro-dilatateur d'extraits de sangs d'origines diverses et du sérum de femme enceinte. Jores, en 1936, signale que la concentration de l'hormone mélanotrope dans le sang serait de 0,5 à 1,5 unités-grenouille (?) pour 10 cm^3 et se révélerait plus forte dans les globules que dans le plasma. Astwood et Geschickter (1936) trouvent de l'intermédine dans le sang d'un malade atteint de mélanosarcome. Stutinsky (1938), Landgrebe et Waring (1941) déterminent à leur tour l'action mélanophorique positive du sang.

Nous cessons là cette énumération, car nous pensons qu'elle suffit ainsi à démontrer surabondamment que le sang renferme de l'hormone mélanotrope. Il est d'ailleurs difficile de concevoir choses autrement.

C. — L'HORMONE MÉLANOTROPE DANS LES URINES

Cette question est à la fois bien plus étudiée et bien plus confuse que les précédentes. Bien plus étudiée, car les expérimentateurs y ont cherché un procédé d'exploration *direct* d'une des fonctions du complexe hypophyso-pituitaire ou un moyen de diagnostic de la grossesse. Bien plus confuse aussi, car les résultats sont malheureusement très discordants.

Zondek et Krohn n'ont jamais pu obtenir une réaction érythrophorique positive avec des urines de toutes provenances et même après l'injection intraveineuse d'intermédine. — Collin et Drouet (1933) sur la grenouille entière, et Bentejac (1938) sur la grenouille hypophysectomisée, observent une dilatation des mélanophores avec les urines dans certains cas pathologiques (tumeur hypophysaire, hyperthyroïdie, rétention chlorurée, hémorragies rétiniennes, etc...).

Collin et Drouet affirment que les urines sont actives la veille ou le premier jour des règles ; Bentejac montre que chez les individus normaux elles restent constamment inactives.

Drouet, Mathieu et Colleson (1933) trouvent de l'hormone mélanotrope dans les urines de certains migraineux.

Binet, Verne et Luxembourg (1934), Mandelstamm (1935), Jores (1936), Dychno (1936), Bruckmann (1937), Servantie et Moretti (1946), L'Epée (1946) obtiennent des réactions mélanophoriques positives avec les urines de femmes enceintes ; notre expérimentation confirme absolument ce fait.

Van Dyke (1940) détecte le facteur mélanotrope dans les urines d'hommes et de femmes normaux, tandis que Landgrebe et Waring (1941) nient formellement l'éventualité de son passage à travers le rein et admettent qu'il est rapidement détruit dans les tissus de l'organisme.

Il semble que toutes ces contradictions puissent s'expliquer par deux faits :

— La difficulté des recherches, car les produits injectés (extraits d'organes, sang, urine) sont souvent toxiques pour les animaux ;

— *L'emploi de techniques de dépistage variables et, la plupart du temps, non spécifiques.*

Nous verrons, par la suite, comment il est possible de se garder de ces deux causes d'erreur.

VIII. – MÉCANISME D'ACTION

La réponse des mélanophores à diverses excitations constitue *le réflexe pigmento-moteur* dont nous allons maintenant étudier les excitants, les voies centripètes, les centres et les voies centrifuges.

A. — LES EXCITANTS

1) *La lumière.* — Elle est le mieux connu des facteurs externes de la fonction d'homochromie mobile. On sait maintenant, depuis les travaux de nombreux chercheurs (en particulier Hogben et ses collaborateurs), que l'obscurité complète amène les grenouilles noires et les grenouilles claires à un état intermédiaire entre la contraction totale et l'expansion totale des mélanophores (Stutinsky). La lumière fait éclaircir les animaux placés sur fond blanc et noircir ceux placés sur fond noir. L'adaptation au fond de la teinte des téguments est provoquée par les variations du rapport de la lumière incidente à la lumière réfléchie. Ainsi l'absence presque totale de lumière réfléchie sur fond noir a pour résultat de faire dilater les cellules à mélanine. Le rôle des yeux dans ces phénomènes est primordial. L'énucléation bilatérale, réalisée par Hogben et Slome (1928-1931), Minckiewitz (1933), Parker, Brown et Odiorne (1935), Stutinsky (1939), supprime toute adaptation au fond et amène les animaux à une teinte intermédiaire tout comme s'ils avaient été placés à l'obscurité totale.

Certains, avec Babak (1912), Laurens (1915), Minckiewitz (1933), Gineste et Coupain (1943), ont pensé que la lumière pouvait agir directement sur les mélanophores. Mais il est alors difficile d'expliquer pourquoi l'hypophysectomie s'accompagne

d'une suppression *totale et définitive* de toute réactivité des cellules pigmentaires à l'excitant lumineux.

Il apparaît plus évident aujourd'hui que la lumière agit *indirectement* sur les mélanotropes par l'intermédiaire de la pituitaire. Koller et Rodewald (1933), puis Rodewald (1935), appuyèrent cette conception d'un certain nombre d'arguments expérimentaux d'ordre physiologique. Ils montrèrent que des extraits de pituitaire de grenouilles maintenues à l'obscurité restent sans effet sur les cellules à mélanine dans 78 % des cas et se révèlent très légèrement actifs dans 22 % des cas. Si l'on éclaire les animaux, l'extrait pituitaire retrouve un pouvoir dilatateur intense.

Par ailleurs, Jores et Hœltz (1936), Parker et Scatherty (1937), Oldham, Calloway et Geiling (1941) observent que le sang d'animaux assombris par séjour à la lumière sur fond noir est plus riche en intermédine que le sang d'animaux clairs.

Outre ces arguments physiologiques en faveur de l'action indirecte de la lumière sur les mélanophores, Florentin et Stutinsky, en 1936, puis Stutinsky, en 1939, ont apporté des preuves histologiques. L'assombrissement de la grenouille sur fond noir, sous l'effet de la lumière, s'accompagne d'une fonte holocrine massive des cellules de la pars intermédia avec neurocrinie interstitielle intense, traduction probable d'un hyperfonctionnement sécrétoire. L'animal éclairci par séjour à la lumière sur fond blanc montre, au niveau de toute la pituitaire, une augmentation des cellules chromophobes et éosinophiles avec diminution parallèle des éléments cyanophiles considérés comme responsables de la sécrétion mélanotrope. Ces résultats, quoique intéressants, ne sont cependant pas admis par tout le monde et furent contredits par Schweckendick, en 1943.

Nous pensons malgré tout qu'il est permis d'admettre, en conclusion, que la lumière diffuse ou réfléchie contracte les mélanophores par effet indirect sur la pituitaire dont elle inhibe vraisemblablement la sécrétion mélanotrope.

2) *La température.* — Il est pratiquement reconnu à l'heure actuelle que la chaleur a un effet éclaircissant et le froid

un effet assombrissant sur la coloration de la grenouille (Biedermann, 1892; Hewer, 1923; Stutinsky, 1939; S. Besson, 1944).

Le mécanisme d'action de la température reste très mal connu. Pour Biedermann (1892) et Laurens (1915), elle interviendrait directement sur les mélanophores. Pour d'autres, avec Parker (1906) et Murisier (1920-21), elle n'agirait qu'indirectement par l'intermédiaire de l'œil et de la pituitaire. Aucune de ces deux hypothèses n'a reçu de confirmation rigoureuse.

Nous avons pu observer, au cours de l'hiver dernier, que des grenouilles complètement hypophysectomisées, dont les mélanophores s'étaient montré totalement contractés à l'examen microscopique, subissaient, par exposition aux grands froids, une légère dilatation mélanophorique au stade 2 d'Hogben. Devant cet état de choses, nous avons d'ailleurs été obligé d'interrompre notre expérimentation pendant quelques jours, les animaux n'étant plus considérés comme utilisables pour le test de grossesse.

Notre observation semble, au premier abord, en faveur de l'hypothèse de l'action *directe* du froid sur les mélanophores. Nous faisons cependant des réserves sur cette interprétation. Nos animaux, en effet, avaient tous reçu une injection d'urines de femmes enceintes dans les jours précédents. Si l'on tient compte du ralentissement considérable de leurs fonctions vitales durant l'hiver, surtout par temps très froid, il est logique de se demander si la faible dilatation des mélanophores ne résultait pas chez eux de l'*élimination incomplète* du produit biologique antérieurement injecté.

L'hypothèse de l'action indirecte de la température par l'intermédiaire de la pituitaire n'est donc pas infirmée.

3) *L'humidité.* — Lister, en 1857, Biedermann, en 1892, Hewer, en 1923, ont montré, sur *Rana temporaria*, que la sécheresse provoque l'éclaircissement et l'humidité l'assombrissement. La présence de la pituitaire semble indispensable à l'activité de l'excitant hygroscopique car nous avons noté *de façon constante* que des grenouilles hypophysectomisées maintenues en milieu humide gardent leurs mélanophores

contractés au maximum. L'effet indirect de l'humidité sur les cellules à mélanines nous paraît donc évident.

4) *Sensations tactiles, piqûres.* — Lesczynski, en 1933, signale que le fait de saisir dans ses doigts une grenouille sombre est susceptible, dans certains cas, de provoquer son éclaircissement. Par ailleurs, Servantie, Cambar, Moretti et Bonnal (1947) notent que la simple piqûre d'une grenouille claire entière peut faire dilater ses mélanophores.

La pituitaire est un intermédiaire indispensable à l'effet de ces deux catégories d'excitation puisque les animaux hypophysectomisés ne sont pas influencés.

5) *Excitants internes.* — La réaction gravidique de la pituitaire et l'augmentation des gonadostimulines pendant la gestation ne peuvent s'expliquer que par l'effet excitant des hormones ovariennes de grossesse ou d'une sécrétion placentaire d'ailleurs hypothétique. Il est raisonnable de penser que le même mécanisme provoque simultanément l'hypersécrétion mélonotrope. Cette hypothèse n'a pour argument que l'analogie, car les travaux sur les rapports des sécrétions ovariennes et mélanophorique restent rarissimes.

Stutinsky dit avoir obtenu une dilatation des mélanophores de la grenouille hypophysectomisée à la suite d'injections de folliculine. Mais Bentejac, ayant répété cette expérience avec des doses de folliculine variant de 500 à 5.000 unités, n'a jamais pu retrouver les résultats de Stutinsky.

De notre côté, il nous a été donné de constater que ni la folliculine, *ni la progestérone* ne déterminaient une réaction mélanophorique positive sur des animaux totalement hypophysectomisés. Ce fait montre seulement que la présence de la pituitaire est nécessaire ; il ne confirme en aucune manière l'effet excitant éventuel des principes ovariens sur l'élaboration de l'intermédine.

La contre-épreuve, tendant à vérifier l'action de la folliculine ou de la progestérone *sur l'animal entier*, ne présente aucune sécurité puisque nous avons vu que la simple piqûre de l'injec-

tion pouvait provoquer la dilatation des mélanophores. — Le problème nous semble donc extrêmement difficile à résoudre.

Outre les produits de la glande ovarienne, d'autres substances chimiques élaborées dans l'organisme ou injectées à l'animal (barbituriques, certains alcaloïdes, etc...) ont sans doute un effet sur la sécrétion mélanotrope. Il en est vraisemblablement ainsi pour les produits n'agissant sur les mélanophores qu'en présence de la pituitaire et demeurant inactifs sur la grenouille hypophysectomisée.

Les recherches à ce sujet sont nombreuses ; nous devons les plus importantes à Shen (1937, 1938, 1939), Teague, Noojin et Geiling (1938), Bentejac (1938). Nous les étudierons plus en détail dans le chapitre suivant.

B. — VOIES CENTRIPÈTES

1) *Voie opto-hypothalamique.* — La lumière est le mieux connu des excitants de la fonction d'homochromie mobile ; parallèlement les auteurs se sont surtout efforcé de démontrer l'existence d'une voie opto-hypothalamique.

Greving, en 1925 (cité par Stutinsky), décrivit le premier des fibres nerveuses reliant le noyau supra-optique, voisin du chiasma, à la pituitaire. Collin, en 1935, démontre à son tour l'existence, chez le cobaye, de fibres nerveuses *amyéliniques*, donc végétatives, se détachant du nerf optique au niveau du chiasma et se rendant au noyau tangentiel de l'hypothalamus. Roussy et Mosinger (1936) décrivent les mêmes éléments chez le chien et chez l'homme ; ils les appellent *fibres rétino-tangentielles.*

Du point de vue physiologique, Rodewald montre, en 1935, que les excitations électriques ou chimiques du bout central du nerf optique, pratiquées à l'abri de la lumière, rendent une activité mélanophorique normale à des pituitaires de grenouilles inactivées par séjour à l'obscurité. De même Stutinsky, toujours chez la grenouille, observe, en 1939, que la cautérisation des parties supra et rétro-chiasmatiques amène des troubles du réflexe opto-pituitaire et que la section *bilatérale* du nerf optique supprime ce même réflexe.

Comme on le voit, les arguments histologiques et physiologiques convergent pour démontrer la réalité indiscutable de la voie opto-hypothalamique.

2) *Autres voies centripètes.* — Nous avons étudié dans le deuxième chapitre les corrélations existantes entre les noyaux gris de l'hypothalamus et les couches optiques. Ces neurones associatifs représentent vraisemblablement la voie de transmission à la pituitaire des excitations sensitives de la sécrétion mélanophorique (lumière, température, humidité, impressions tactiles, piqûres).

Les relations identiques, décrites par Roussy et Mosinger, entre l'hypothalamus et les divers centres végétatifs sous-jacents pourraient également constituer le support centripète de certaines excitations internes, en particulier de l'influence ovarienne pendant la gestation. Il suffit, en effet, de se rappeler les perturbations parasympathiques de la grossesse pour pouvoir penser que l'action de l'ovaire sur la sécrétion mélanotrope n'est pas fatalement et uniquement d'ordre humoral. Nous verrons par ailleurs que l'acetylcholine, parasympathicomimétique parfait, *dilate les mélanophores.* On peut donc considérer comme possible, jusqu'à démonstration du contraire, que l'ovaire, pendant la grossesse, est susceptible d'influencer la sécrétion de l'intermédine par un double mécanisme. Le premier direct ou humoral, le second indirect ou nerveux par l'intermédiaire du parasympathique et de l'hypothalamus.

La même action nerveuse peut être envisagée pour des excitants internes comme les anesthésiques ou les barbituriques qui dilatent les mélanophores chez la grenouille entière et dont l'effet sur le système nerveux ne fait par ailleurs aucun doute.

C. — LES CENTRES SÉCRÉTOIRES

L'intermédine est sécrétée par la pituitaire. Les expériences d'hypophysectomie, d'injection d'extraits, d'implantation, dont nous avons déjà abondamment parlé, le démontrent de façon indiscutable. D'un autre côté, nous venons de voir que les excitations centripètes de la sécrétion mélanotrope parvenaient

aux noyaux de l'hypothalamus. Celui-ci représente donc un relai et vraisemblablement même un centre excito-moteur. Son rôle est mis en évidence par plusieurs expériences.

Houssay et Ungar, en 1924, observent que la piqûre de l'infundibulum provoque le noircissement chez la grenouille. Elle reste sans action si l'animal est hypophysectomisé auparavant (Houssay et Giusti, 1930). Schurmeyer, en 1926, confirme les résultats de Houssay et Ungar, et montre en outre que la section médullaire n'abolit pas le réflexe pigmentaire. Donc, l'action mélanophorodilatatrice de la piqûre du tuber résulte non d'un mécanisme nerveux, mais d'un mécanisme humoral par l'intermédiaire de la sécrétion pituitaire. — Stutinsky note, en 1934, que la section de l'infundibulum chez la grenouille s'accompagne d'un noircissement permanent, d'une fonte colloïde massive du lobe intermédiaire devenu très cyanophile et enfin d'une surcharge colloïde du lobe nerveux. Il est donc hors de doute que les excitations de l'hypothalamus (piqûre ou section) stimulent la sécrétion d'intermédine.

La stimulation s'effectue par la voie du *faisceau nerveux hypothalamo-hypophysaire* ou diencephalo-pituitaire (Tello) mis en évidence par Rothig (1911), Weinberg (1931), Roussy et Mosinger (1936).

D. — VOIES CENTRIFUGES

Deux conceptions sont en présence : la théorie nerveuse et la théorie humorale.

1° Théorie nerveuse

1) *Théorie nerveuse.* — Elle pose comme principe de départ qu'une cellule quelconque n'est sensible à un facteur hormonal

Elle pose comme principe de départ qu'une cellule quelconque n'est sensible à un facteur hormonal que dans la msure où elle y est sollicitée par une action nerveuse (Dreyfus, 1937). Elle implique obligatoirement une innervation des mélanophores par des nerfs pigmento-moteurs.

Bien avant la découverte des actions hormonales plusieurs expérimentateurs lui ont apporté des arguments.

Dès 1878, Bimmermann note que la section du sciatique chez

la grenouille provoque une expansion des mélanophores. Mais ce phénomène n'est que transitoire ; les cellules à mélanines continuent à réagir à la lumière et quelques jours après, la patte opérée redevient semblable à la patte intacte.

En 1892, Biedermann montre que l'excitation faradique des nerfs périphériques de la grenouille amène un éclaircissement cutané dans le territoire correspondant, à condition bien évidemment que les mélanophores soient dilatés avant l'expérience. De plus, une patte de grenouille ne restant unie au reste du corps que par les vaisseaux a des réactions mélanophoriques normales. Mais, si l'on détruit les fibres sympathiques périvasculaires par la chaleur, on obtient une expansion des cellules à mélanine qui persiste quand le reste du corps claircit. — Ces expériences furent vérifiées et confirmées par Carnot en 1896.

D'après Zondek (1934), les nerfs sympathiques ou parasympathiques agiraient sur les mélanophores en assurant dans la membrane cellulaire un certain équilibre ionique qui permettrait ou non la pénétration de l'hormone au point exactement nécessaire.

Tout cela sous-entend que le mélanophore reçoit *au contact* des terminaisons nerveuses. Cette hypothèse fondamentale de la théorie nerveuse est très fortement critiquée.

Certains avec Hogben et Mirvish (1928), Zoond et Eyre (1934) admettent comme démontré que la réponse pigmentaire est due, chez les reptiles, à une innervation directe des chromatophores. Solland (1908), Perotti (1928), Collin (1936), Dreyfus (1937), Tusques (1939) ont essayé de prouver la réalité histologique des nerfs pigmento-moteurs du mélanophore. Mais on est obligé de constater, avec Stutinsky, qu'aucune description n'a jusqu'à présent apporté la démonstration indiscutable d'une telle morphologie.

Une contradiction plus grave fut apportée par l'étude du comportement, vis-à-vis de l'intermédine, de mélanophores isolés *in vitro* et séparés de tout centre nerveux végétatif. Tous ceux qui ont utilisé des fragments de peau de grenouille isolés (Trendelenburg, 1926; Jores et collaborateurs, etc...)

des écailles de poisson *in vitro* (Binet, Verne et Luxembourg, 1934 ; C. Veil, 1938 ; Verne et Vilter, 1935) ou des cultures pures de mélanophores (Vilter, 1939), ont pu observer que les cellules à mélanine réagissaient parfaitement aux excitations humorales en dehors de toute connexion avec le système nerveux.

Devant cet écueil, on chercha alors à mettre en évidence des cellules sympathiques para-mélanophoriques susceptibles d'expliquer dans le cadre de la théorie nerveuse les réactions des cellules pigmentaires séparés des neurones végétatifs ganglionaires. Les recherches restèrent sur ce point négatives.

Vilter montre, en 1932, que les mélanophores de l'axolotl, émigrés du derme dans l'épiderme, continuent à réagir comme les autres. Or, l'épiderme ne contient pas de formations nerveuses, donc le système nerveux n'intervient pas ou du moins, s'il intervient, il ne le fait qu'à distance.

Partant de cette idée, Parker (1932), Vilter (1933), puis Danielopolu (1943), pensèrent alors à la possibilité d'une excitation de la cellule pigmentaire par l'action à distance d'un médiateur chimique libéré à l'extrémité des neurones (neurocrinie périphérique). Ils évitèrent ainsi de faire appel à l'idée très discutée du contact entre les terminaisons nerveuses et les mélanophores.

L'hypothèse de l'action nerveuse à distance est d'autant plus intéressante à considérer que l'adrénaline contracte les cellules à mélanine et que l'acétylcholine les dilate. — Cependant la présence dans le sang, et surtout dans les urines des femmes enceintes, d'un principe mélanophoro-dilatateur alors qu'on n'y a jamais trouvé d'acétylcholine montre que le mécanisme nerveux par médiateur chimique, en supposant qu'il existe, n'est pas le seul à entrer en ligne de compte. Par ailleurs, la section médullaire n'abolit pas le réflexe pigmentaire à la lumière (Schurmeyer, 1926) donc l'excitation des mélanophores ne se propage pas uniquement par voie nerveuse. Enfin, la glande pituitaire est absolument indispensable à la persistance de la fonction d'homochromie mobile et ce fait prouve à lui seul

qu'il existe une voie centrifuge humorale. Elle n'est peut-être pas unique, mais au moins elle est certaine.

2° Théorie humorale

Dès 1857, Lister montra que l'intégrité du système vasculaire est une condition indispensable de la mélanocinèse. Entre 1921 et 1924, Hogben et Winton ont minutieusement étudié la question. Ils envisagèrent au départ quatre hypothèses possibles pour expliquer le mécanisme d'intervention de l'hormone mélanotrope :

2. Stimulation de centres nerveux pigmento-moteurs ;
3. Action sur les terminaisons nerveuses pigmento-motrices ;
4. Action directe sur les mélanophores.

A la suite de très nombreuses expériences, ces auteurs ont admis en fin de compte l'action directe de l'intermédine sur les cellules à mélanines. Houssay et Ungar (1924), Lœwe et Illison (1925), Treuter (1925), Trendelenburg (1929), Jores (1933), Verne et Vilter (1935), C. Veil (1938), Vilter (1938), S. Besson (1944) et d'autres encore, après une longue suite de travaux concordants, se rangent à la même opinion.

Il y a donc un réflexe pigmento-moteur, constitué par une *chaîne neuro-endocrinienne*, et dont la réalité nous apparaît maintenant comme certaine.

IX. – RÉGULATION DE LA MÉLANOCINÈSE

Suivant que les auteurs admettent la régulation des mouvements du mélanophore par un seul principe, l'hormone mélanotrope ou par deux substances antagonistes, ils se rangent parmi les unicistes ou les dualistes.

A. — THÉORIE UNICISTE

Elle est soutenue, entre autres, par Millot (1923), Himmer (1924) et Abramowitz (1939). Pour ces auteurs, la seule substance dont on ait pu démontrer de façon certaine l'action

directe sur les mélanophores est l'intermédine. Par conséquent elle seule est responsable des différents aspects que peuvent prendre les cellules pigmentaires, depuis l'extrême contraction jusqu'à la dilatation maximum. Autrement dit, *la régulation de la mélanocinèse se réduit à une variation dans l'intensité sécrétoire de l'hormone mélanotrope.*

Cette théorie a l'avantage de la simplicité et de ne faire entrer en ligne de compte que des faits rigoureusement démontrés.

B. — THÉORIE DUALISTE : RÉGULATION ANTAGONISTE

Devant certains faits expérimentaux, plusieurs auteurs ont été amenés à concevoir un mécanisme plus complexe de régulation mélanophorique. L'état de la cellule pigmentaire serait le résultat d'un équilibre variable entre un facteur agoniste dilatateur, l'hormone mélanotrope, et un facteur antagoniste constricteur. L'accord n'est d'ailleurs pas réalisé sur la nature de ce deuxième principe. Pour Hogben et son école, il s'agit d'une hormone pituitaire spéciale sécrétée par la pars tubéralis et appelée hormone W (white-hormone, par opposition à la black-hormone ou intermédine) ; pour la plupart des autres dualistes, il s'agit de l'adrénaline.

1° Hormones B et W d'Hogben

En effectuant des hypophysectomies partielles chez Xenopus laevis, Hogben et Slome, en 1936, observent que l'ablation isolée du lobe principal et de la pars tuberalis, qui lui est accolée chez cette espèce animale, amène une expansion prolongée des mélanophores. Ils déduisent de cette expérience l'hypothèse que la pars tubéralis sécrète un principe éclaircissant, l'hormone W. D'ailleurs Meyer, en 1931, avait obtenu chez des poissons un éclaircissement local du tégument d'animaux sombres par injection de sang d'animaux clairs ; le sang d'animaux sombres n'avait aucun effet éclaircissant. Ces résultats cadraient très bien avec la conception d'Hogben, malheureusement ni Parker (1936), ni Abramowitz (1939) ne parvinrent à les

retrouver. Ils notèrent tout au contraire que du sang de poissons clairs n'éclaircit pas des animaux foncés même s'il provient de sujets à qui on a enlevé toute la pituitaire en ne laissant en place que la pars tubéralis.

Hogben pratiquait l'hypophysectomie par la technique d'aspiration à la pipette. Or, d'après Rimer (1931) et Stutinsky (1939), ce procédé est susceptible de provoquer une excitation mécanique ou une lésion du lobe intermédiaire contigu et par suite une expansion des mélanophores. Il risque aussi de laisser en place des fragments de pituitaire. Hasama a d'ailleurs démontré, en 1937, que la piqûre du lobe intermédiaire s'accompagnait du noircissement de l'animal même si le lobe principal et la pars tubéralis étaient laissés en place.

L'expérience de Hogben et Slome ne suffit donc pas à prouver l'existence de l'hormone W.

2° Le système intermédine-adrénaline

Corona et Moroni (1898) sont les premiers à enregistrer l'effet constricteur d'un extrait de surrénales sur les mélanophores de la grenouille entière. Abelous, en 1904, observe à nouveau ce phénomène et montre que l'injection de 1/10 à 1/20 de mgr. de chlorhydrate d'adrénaline aboutit au même résultat. A son avis, d'ailleurs, ces modifications sont liées à des perturbations vasomotrices.

Lieben (1906), Kahn et Lieben (1907), Bigney (1919) se mettent alors en devoir d'étudier le mécanisme de l'effet adrénalinique sur les mélanophores. Lieben pense qu'il s'agit d'une action locale indépendante de toute modification circulatoire. M^lle^ Koenig (1915) confirme cette façon de voir après avoir obtenu, par excitation des nerfs, la contraction des cellules à mélanine sans phénomènes vasculaires. Kahn fait de même, en 1922, en montrant la possibilité d'une dissociation de l'effet vaso-moteur et de l'effet mélanophorique par des injections de pilocarpine. Le même auteur signale que la grenouille est susceptible de réagir à des doses très faibles d'adrénaline (0 cm^3 5 d'une solution au 1/10.000) et que l'injection préalable

de curare à l'animal amène *une inversion* de l'action de cette substance sur les cellules à mélanine (dilatation au lieu de contraction).

Sur les mélanophores séparés de l'organisme et cultivés in vitro, l'adrénaline paraît agir de diverses façons. Ainsi Verne et Vilter (1935) trouvent qu'elle n'a aucun effet sur l'écaille isolée de *Carassius vulgaris* en culture depuis plusieurs jours. Trois ans plus tard C. Veil affirme au contraire qu'elle contracte les cellules à mélanine de l'écaille isolée de cyprin, même en présence d'intermédine, ce qui semblerait montrer que son action est prépondérante. Toutefois ce dernier point est une question de dosage et il ne faut pas se hâter de conclure. — Enfin, dans le même ordre d'idée, Vilter, en 1939, signale que l'adrénaline *dilate* des mélanophores isolés en culture pure sur plasma ainsi que ceux de fragments de peau d'axolotl conservés in vitro.

Mis a part l'effet d'amphomimétisme, toujours possible, ces contradictions ne sont pas pour nous surprendre si l'on considère une fois de plus le manque absolu de sécurité du test employé pour le dépistage des modifications mélanophoriques.

Il n'en reste pas moins que l'adrénaline *est une substance amphomimétique* capable de produire, suivant les circonstances de l'expérience, soit une contraction, soit une dilatation des cellules à mélanine.

Les premiers faits de ce phénomène, signalés par Kahn sur la grenouille curarisée, ont été retrouvés par Lesczynsky, en 1933, sur la grenouille normale chez qui l'injection d'adrénaline, après avoir été suivie d'un éclaircissement passager, ne tarda pas à provoquer un noircissement très intense.

Geiringer, en 1938, observe le noircissement par l'adrénaline chez des animaux hypophysectomisés. Ceci est confirmé, en 1939, par C. Veil sur le poisson-chat normal et hypophysectomisé, mais seulement après l'injection d'une forte dose de substance active.

Nous avons, de notre côté, étudié les effets de l'adrénaline sur trois catégories de grenouilles :

— normales,

— totalement hypophysectomisées,

— incomplètement hypophysectomisées, de manière à diminuer, par ablation sub-totale du lobe intermédiaire, l'élaboration de l'hormone mélanotrope susceptible de contrarier l'action de l'adrénaline.

Nous avons injecté à ces animaux du chlorhydrate d'adrénaline *à doses et à dilutions variables*. Nos résultats, dont le détail sera donné plus loin, peuvent se schématiser ainsi :

Grenouille entière :

1/2 mgr. en solution à 1 p. 1.000 .... Contraction intense.

Hypophysectomie totale :

1/10 mgr. en solution à 1 p. 5.000.... Aucune action.

Hypophysectomie sub-totale :

1/10 mgr. en solution à 1 p. 5.000.... Aucune action.
1/2 mgr. — — .... Très faible contraction.
1/2 mgr. — à 1 p. 1.000.... Aucune action.
1 mgr. — — .... Contraction nette.
1 mgr. — à 1 p. 2.500.... Dilatation intense.

Ainsi nous avons observé :

— Que l'adrénaline contracte les mélanophores de la grenouille normale.

— Qu'elle n'a aucune action, à faible dose, sur l'animal totalement ou incomplètement hypophysectomisé.

— Qu'il est nécessaire d'augmenter la dose *et de faire varier la dilution* pour obtenir un phénomène d'amphomimétisme chez des sujets ayant subi l'ablation sub-totale du lobe intermédiaire.

Si l'adrénaline est bien le principe mélano-constricteur antagoniste de l'intermédiaire, l'implantation de surrénales doit déterminer l'éclaircissement et la surrénalectomie l'assombrissement.

L'implantation de surrénales de jeunes rats sous la peau de la grenouille fut réalisée, en 1944, par S. Besson. Aucun éclair-

cissement ne s'ensuivit. L'auteur explique ce fait contradictoire par l'oxydation destructive de l'adrénaline à mesure qu'elle est lentement sécrétée par le greffon. Cette explication est rationnelle, mais elle n'est pas démontrée.

Par ailleurs la surrénalectomie fut réussie pour la première fois sur la grenouille par ABELOUS et LANGLOIS, en 1891, mais ne fut étudiée en liaison avec la pigmentation qu'en 1904, par ABELOUS. Les sujets opérés devinrent définitivement noirs et seules des injections d'adrénaline purent les éclaircir à nouveau mais de façon passagère. WACHHOLDER et MORGENSTERN confirment ces résultats en 1933. Mais deux ans plus tard MAES signale que le phénomène s'observe seulement dans 25 % des cas et en déduit que les surrénales n'interviennent pas seules dans la mélano-constriction. En 1944, S. BESSON enregistre à son tour des résultats très discordants après cautérisation bilatérale des surrénales.

Que conclure devant ces contradictions ? Il n'est pas impossible que pendant la survie post-opératoire, toujours courte d'ailleurs, le traumatisme de l'intervention constitue dans certains cas un excitant douloureux continu et suffisant pour déclancher la sécrétion d'intermédine. Nous avons vu qu'une piqûre d'aiguille pouvait suffire à provoquer cet effet sur l'animal pourvu de sa pituitaire; à plus forte raison une cautérisation après laparotomie !

Mais, SHEN, en 1937, tenta et réussit l'ablation associée de l'hypophyse et des surrénales. Après l'opération, les mélanophores de la membrane interdigitale *restèrent contractés au maximum*, comme après l'hypophysectomie isolée. Voilà un fait expérimental qui, s'il est vérifié, ébranle singulièrement la conception du rôle mélanophoro-constricteur de l'adrénaline. Faut-il alors admettre avec VILTER (1939) que ce n'est pas l'adrénaline qui agit in vivo mais une substance voisine élaborée par le sympathique ? Certes rien ne s'y oppose *à priori ;* rien ne le prouve non plus. GIERSBERG (1932), STUTINSKY (1935), BOTTGER (1937) ont tenté d'apporter un argument dans ce sens en montrant que l'adrénaline n'a aucun effet sur les érythro-

phores du vairon dont on sait qu'ils ne sont pas innervés. Il semble donc que l'adrénaline, si elle agit, ne le fait qu'en présence de terminaisons nerveuses. Cependant la démonstration n'est pas évidente.

Bien des points, on le voit, demeurent encore incertains. Le champ des recherches reste grand dans ce domaine et le mécanisme régulateur de la mélanocinèse n'a pas encore livré son secret.

CHAPITRE V

LE TEST DES MÉLANOPHORES

Le test des mélanophores peut être défini, d'une façon très générale, comme une *épreuve qui consiste à provoquer artificiellement l'expansion des cellules à mélanine d'espèces animales pourvues de la fonction d'homochromie mobile.*

Les premiers emplois que l'on en fit eurent tout naturellement pour but de dépister l'hormone mélanotrope. Mais, pour les raisons que nous allons envisager, on ne tarda pas à considérer que la dilatation des mélanophores n'était pas spécifique de l'intermédine et que de nombreux autres facteurs chimiques ou physiques pouvaient la provoquer. Zondek et Krohn furent tellement convaincus de ce fait que, dans leurs recherches sur le principe mélanotrope, ils abandonnèrent la réaction mélanophorique pour ne considérer que les modifications des érythrophores.

Nous nous proposons, dans ce chapitre, d'expliquer les erreurs qui ont été commises à ce propos et de mettre en évidence les conditions de la spécificité du test des mélanophores. Car ce test est spécifique de l'hormone mélanotrope ; cela est certain, indiscutable, et l'emploi d'une technique adéquate a permis à MM. Servantie et Moretti de montrer qu'il constitue véritablement une méthode sûre et rapide de diagnostic de la grossesse.

I. – LES TESTS MÉLANOPHORIQUES [1]

La définition générale du test mélanophores ne fait pas état des modalités techniques utilisées pour sa réalisation. Les réactifs biologiques employés varient en effet suivant les expérimentateurs. On peut les ranger en trois groupes :

Animaux entiers (batraciens ou poissons) examinés au microscope (état des mélanophores) ou macroscopiquement (variations de la coloration cutanée).

Mélanophores isolés in vitro : fragments de peau de batraciens ou écailles de poissons.

Animaux préparés, par décérébration ou par hypophysectomie et dont les réactions sont jugées soit microscopiquement, soit à l'œil nu.

A. — TESTS SUR LES ANIMAUX ENTIERS

Par simplification expérimentale, les animaux entiers furent les premiers employés. Ils demeurent d'ailleurs très utilisés à l'heure actuelle et l'immense majorité des chercheurs s'adresse aux batraciens et aux poissons.

La grenouille entière est le moyen de dépistage dont on se sert le plus souvent. L'effet mélanophorique après injection d'un produit quelconque est évalué par l'examen macroscopique ou microscopique.

La méthode macroscopique consiste à noter les modifications tinctoriales de la peau de la grenouille injectée par rapport à la couleur d'animaux témoins placés dans les mêmes conditions d'éclairement, de température et d'humidité.

On peut adresser plusieurs reproches à ce procédé.

En premier lieu la comparaison des changements de couleur macroscopiques manque de précision. Elle est parfois même

---

[1] Ce paragraphe nous a été en partie inspiré par l'article de MM. Servantie et Moretti : « Le mélanophoro-diagnostic de la grossesse, application et valeur ». — A paraître dans la *Biologie Médicale.*

rendue difficile par le fait que les animaux entiers présentent des variations individuelles importantes dans la teinte et le dessin cutanés, toutes conditions extérieures étant par ailleurs égales. Ceci est dû à ce que la pituitaire de grenouilles différentes, placées dans des circonstances identiques, ne secrète pas forcément la même quantité d'hormone mélanotrope.

Le second reproche est plus grave : la réaction colorée du tégument ne donne pas toujours une image exacte de l'état des mélanophores. Teague, Noojin et Geiling (1938) ont en effet signalé que parfois l'on n'observe qu'un très faible changement macroscopique dans la teinte de l'animal, *malgré une expansion très nette des cellules à mélanine au microscope.*

On voit, en résumé, combien l'observation à l'œil nu est sujette à un degré d'erreur élevé, même avec l'aide de comparaisons habiles.

Pour éviter cela, plusieurs autres, à la suite d'Hogben et de Hewer, ont alors proposé d'examiner les réactions mélanophoriques de la grenouille au microscope.

La méthode microscopique a l'avantage de permettre l'évaluation précise de l'état de dilatation ou d'expansion des mélanophores. Nous ne reviendrons pas sur les procédés de numération d'Hewer et d'Hogben rapportées précédemment. L'examen miscroscopique chiffré représente de façon indubitable un progrès que trop de chercheurs négligent encore aujourd'hui. Cependant il ne supprime pas les erreurs dues à ce que *la grenouille employée entière ne constitue pas un réactif spécifique* de l'hormone mélanotrope. Cela est facilement concevable lorsque l'on réfléchit qu'un tel animal conserve intacts sa pituitaire et son système propre de régulation mélanophorique. Or nous avons vu avec quelle sensibilité et quelle facilité ce système est susceptible de réagir. L'expansion des cellules à mélanine peut être, en effet, provoquée par des excitants externes tels que la lumière, la température, l'humidité, la piqûre de l'injection, la distension du sac lymphatique dorsal [1] et par des excitants internes parmi lesquels il faut ranger le pH du produit employé et dont d'autres restent encore mal définis.

(1) Servantie et Moretti ont, en effet, signalé qu'une injection de sérum physiologique pouvait, dans certains cas, faire noircir une grenouille entière.

Le manque de spécificité de l'animal non opéré a d'ailleurs été démontré par LAMBILLON et LEJEUNE, en 1938, à l'aide des expériences suivantes : l'injection d'urines d'hommes ou de femmes normaux à la grenouille entière, placée sur fond blanc éclairé, provoque la dilatation des mélanophores dans 30 cas sur 48 et donne une réaction négative dans les 18 autres cas. De plus, le même échantillon d'urine injecté à plusieurs animaux dans des conditions identiques donne tantôt une réaction positive, tantôt une réaction négative avec une irrégularité déconcertante.

Il nous paraît donc impossible, devant ces faits, d'accorder une valeur quelconque au réactif biologique constitué par la grenouille entière, même si l'effet mélanophorique est jugé au microscope.

TEST DES ÉRYTHROPHORES SUR LE VAIRON. — Il n'est pas étonnant, dès lors, que ZONDEK et KROHN aient préféré s'adresser à la réaction des érythrophores du *Phoxinus laevis*. La robe de noces du vairon, déjà décrite à propos de la définition de l'unité. Phoxinus, se superpose au noircissement mélanophorique lorsque l'on injecte de l'intermédine à ce poisson. Elle aurait l'avantage d'être absolument spécifique de l'hormone en question par opposition au test mélanophorique qui peut devenir positif par simple acidification du pH du liquide injecté.

L'influence du pH sur la dilatation des cellules à mélanine fut par ailleurs observée par TRENDELEBURG; elle est indubitable, mais sur l'animal entier seulement. LANDGREBE et WARING ont, en effet, démontré, en 1911, que les variations de pH d'un liquide injecté au Xenopus hypophysectonisé n'avaient aucune influence mélanophoro-dilatatrice. Nous avons fait la même constatation sur *Rana esculenta* totalement hypophysectomisée. En mesurant de façon systématique, le pH des urines que nous injections à l'animal opéré, et malgré des variations allant de 8 à 4,5, il ne nous a jamais été donné de constater de réactions anormales.

En outre, le test érythrophorique n'est pas exempt de toute critique. L'une d'entre elles est que la réponse de la femelle du Phoxinus au produit injecté dépend de l'état de ses gonades. STUTINSKY, en 1934 remarque, en effet, que l'injection d'hormone

mélanotrope à des vairons femelles ne donne pas l'expansion des érythrophores, quelle que soit la dose employée. De plus, la robe de noces chez le mâle, quoique plus constante avec les extraits post-hypophysaires, se produit aussi avec toute une série d'extraits endocriniens. Ceci ne correspond pas, du point de vue de la spécificité, aux résultats de Zondek et Krohn. La conclusion de Stutinsky est que la dilatation des érythrophores ne constitue pas un test de certitude de l'hormone mélanotrope. Pour Collin et Drouet (1934), les faits de Stutinsky sont la conséquence du degré variable de maturation des gonades puisque, sous condition de choisir des animaux ayant plus de 6 cm. de long, on peut obtenir, avec l'intermédine, l'expansion des érythrophores chez des vairons des deux sexes.

Par ailleurs, le plus grave reproche que l'on puisse faire au test-Phoxinus est la possibilité d'erreurs dues aux réactions propres du système d'homochromie mobile chez un animal qui possède encore sa pituitaire. Ce point faible est le même que chez la grenouille entière. Nous y insistons cependant car il est capital.

La réaction de Zondek possède un autre inconvénient, c'est l'évaluation macroscopique des modifications tinctoriales. Son manque de précision, la cause d'erreur qu'elle peut constituer nous sont déjà connus. Pour éliminer cet obstacle, Bottger, en 1937, essaya d'appliquer au test des érythrophores une méthode d'examen microscopique sur la nageoire isolée *in vitro*. Ce procédé est aussi critiquable que le test mélanophorique sur peau isolée de grenouille ou sur écaille de poisson. La lecture microscopique du comportement des chromatophores en général *doit être faite in vivo* pour être valable.

Enfin, pour terminer, rappelons que l'identité ou la différence entre les hormones érythrophorique et mélanophorique est encore l'objet de controverses. Tant que cette question reste en suspens, il nous paraît préférable pour tester l'hormone mélanotrope de s'adresser à la réaction des cellules à mélanine.

D'autres batraciens que les grenouilles (axolotl, crapaud) et d'autres poissons que le vairon (poisson-chat, torpille, raie,

gobie) ont été employés sans opération préalable pour le dépistage de l'intermédine. Les inconvénients qu'ils présentent sont les mêmes que ceux de la grenouille entière, c'est-à-dire en particulier l'intégrité de la voie réflexe neuro-endocrinienne de régulation pigmentaire. Il est donc évident que l'examen macroscopique ou microscopique de l'animal intact ne peut pas constituer un test spécifique de l'hormone mélanophorique. Nous aurons d'ailleurs l'occasion de nous en convaincre une fois de plus à propos de l'étude des substances mélanophorodilatatrices.

B. — TESTS SUR LES MÉLANOPHORES ISOLÉS

Afin d'éviter les réactions propres de l'animal à des excitants autres que la substance injectée, un certain nombre d'expérimentateurs on temployé comme réactif la peau isolée de grenouille ou l'écaille isolée de poisson conservées *in vitro*. Les premiers essais dans ce sens furent effectués par Hogben et son école (1922-24).

Les avantages envisagés étaient d'une part la suppression de la sécrétion d'intermédine par l'animal, d'autre part l'élimination d'une action directe éventuelle du système nerveux sur les mélanophores.

Nous ne reviendrons pas sur l'importance du premier fait ; par contre, vouloir se débarrasser à tout prix d'une action nerveuse directe sur le mélanophore est d'un intérêt moins primordial. On a pu se rendre compte dans le chapitre précédent que la réalité d'un tel effet demeure hypothétique et très discutée car personne n'est encore parvenu à la démontrer.

A côté de ces avantages dont l'un au moins est très important, il faut malheureusement mettre en balance des inconvénients tels qu'ils enlèvent toute spécificité à la méthode.

Jores, d'abord défenseur de la méthode sur peau isolée (1933-34), affirme qu'elle est suffisamment spécifique et expérimentalement acceptable. Mais un peu plus tard, en 1936, à la suite d'une série de recherches sur des urines concentrées, il ne tarde pas à constater qu'elle peut donner des réactions positives non spécifiques de l'intermédine. Dès que les solu-

tions utilisées dépassent le point neutre et deviennent acides, l'expansion des mélanophores se produit en l'absence de tout principe hormonal, le fait étant par ailleurs connu que les cellules à mélanine de la peau *fraîchement* isolée se contractent progressivement.

En 1935, Vilter observe qu'immédiatement après la mort d'un animal porteur de mélanophores, ceux-ci se dilatent spontanément (expansion post-mortem). Servantie et Moretti signalent, en 1947, que cette dilatation peut commencer avant la mort et l'appellent *dilatation préagonique*. Contrairement à la dilatation post-mortem, la dilatation préagonique est inconstante et ne se produit que dans un quart des cas environ, sa fréquence étant plus grande lorsque la mort est précédée de paralysie. Nous avons pour notre part constaté la réalité de la dilatation préagonique à de nombreuses reprises ; nous en apporterons quelques exemples et la preuve expérimentale un peu plus loin.

La survie de la peau de grenouille isolée n'est jamais bien longue quel que soit le procédé employé pour la conserver *in vitro*. Dans ces conditions on admettra que le phénomène de l'expansion pré-mortem des mélanophores risque de constituer une cause d'erreur d'autant plus gênante qu'elle est imprévisible puisqu'elle n'est pas constante.

La même critique peut être adressée à l'emploi de l'écaille de poisson isolée *in vitro*, de la nageoire de Phoxinus séparée du corps de l'animal (Bottger, 1937) ou de la patte de grenouille amputée.

C. — TESTS SUR LES ANIMAUX PRÉPARÉS

1) Grenouille décérébrée

Sawko, en 1943, utilisa pour réaliser le test des mélanophores des grenouilles complètement décérébrées. Il injecte la substance à étudier dans le sac lymphatique régional d'un membre postérieur. En cas de réaction positive, la patte injectée s'assombrit. La variation de teinte est évaluée par rapport à la couleur de la patte opposée qui

sert de témoin ; SAWKO l'appelle *la réaction zonale* et la déclare spécifique de l'hormone mélanotrope.

Ce dernier point fut en réalité démontré inexact par RICHTER, en 1944. Cela n'est pas pour nous surprendre puisque nous retrouvons ici deux des causes d'erreur déjà signalées. La lecture du test demeure en effet macroscopique bien qu'un point de comparaison ait été établi, qui tourne l'obstacle des variations individuelles de teinte. Par ailleurs la décérébration de la grenouille s'accompagne d'une survie qui ne dépasse pas une à deux heures ; la cause d'erreur de la dilatation préagonique est donc toujours susceptible de fausser les résultats.

On voit en conclusion que la méthode de SAWKO ne présente pas plus de sécurité que celles que nous venons d'étudier.

2) Animaux hypophysectomisés

L'ablation de la pituitaire sectionne l'arc réflexe de la régulation mélanophorique. Elle permet, par suite, d'obtenir un animal réactif exclusivement sensible à ce qu'on lui injecte. Autrement dit, elle supprime toutes les causes d'erreurs liées à la mise en jeu intempestive de ce réflexe par des excitants divers, mais à une condition formelle, *c'est que l'hypophysectomie soit absolument totale.*

SERVANTIE et MORETTI (1947) ont, en effet, montré qu'il est fréquent, lors de l'opération, de laisser en place des fragments du lobe intermédiaire, surtout à ses insertions latérales sur la méninge molle. On obtient alors un animal très éclairci mais dont un certain nombre de mélanophores apparaissent au microscope en demi-dilatation. Des coupes sériées de la région pituito-hypophysaire sur de tels animaux montrent l'existence de parcelles du lobe intermédiaire. Il est évident que ces fragments glandulaires, continuant leur sécrétion, maintiennent l'intégrité de l'arc réflexe d'homochromie mobile et réintroduisent la cause d'erreur fondamentale liée à la mise en jeu de ce réflexe par des excitations extérieures.

Un certain nombre d'auteurs utilisant des animaux hypophysectomisés (grenouilles, axolotl, anolis, poissons divers) se sont

contentés de juger la réponse par lecture macroscopique. Or, en cas d'hypophysectomie incomplète, un animal d'apparence très claire peut avoir ses mélanophores dilatés. Inversement, nous avons très souvent constaté, au cours de notre expérimentation, que des grenouilles complètement hypophysectomisées, ayant *toutes* leurs mélanophores dermiques au stade 1 d'Hogben, présentaient des variations de teinte individuelle parfois très grandes. Les unes sont vert-jaune très clair, d'autres gris-perle, d'autres franchement vertes. On conçoit, dans ces conditions, qu'il ne soit pas toujours facile d'éviter l'erreur lorsque l'on compare macroscopiquement un animal test hypophysectomisé à un animal témoin également opéré.

Nous concluerons donc cette étude critique en affirmant que la *condition nécessaire et suffisante de la spécificité du test des mélanophores est l'examen microscopique d'un animal totalement hypophysectomisé.*

II. – TESTS MÉLANOPHORIQUES ET GROSSESSE

Un certain nombre de tentatives effectuées dans le but de découvrir un nouveau test de grossesse basé sur le dépistage de l'hormone mélanotrope dans les urines de femmes enceintes se montrèrent peu satisfaisantes.

En 1926, Ascheim et Zondek découvraient les principes gonadotropes dans l'urine gestative. La réaction gravidique de la pituitaire étant par ailleurs connue, l'idée vint tout naturellement à plusieurs expérimentateurs de rechercher dans de telles urines la présence de l'hormone mélanotrope, d'origine pituitaire elle aussi.

Dès 1929, Trendelenburg appliqua le procédé de la peau isolée de grenouille au diagnostic de la grossesse. Il utilisa les urines et prétendit avoir des résultats exacts. En 1933, Dietel, par la même méthode, montre que le sérum et l'urine d'éclamptique, ainsi que l'urine de femme enceinte normale,

contiennent de l'intermédine. La concentration de ce principe serait plus forte également dans le sang que dans l'urine, et la plus haute concentration se rencontrerait dans l'éclampsie. Ehrardt, en 1934, toujours sur peau isolée, obtient des réactions positives avec des extraits de placenta d'éclamptique alors que le placenta normal ne donne aucune réaction. Il observe ensuite que le test des mélanophores est souvent positif avec l'urine de femme enceinte mais que cette positivité n'est pas constante. Jores et son élève Galanski, en 1936, constatent que la peau isolée de grenouille donne 62 % de résultats positifs avec les urines gravidiques et 36 % avec les urines d'individus normaux. Il apparaît donc, d'une part, que la réaction n'est pas constante pendant la grossesse, d'autre part, qu'elle n'est pas spécifique de la grossesse. Le test mélanophorique sur peau de grenouille n'a dans ces conditions aucune valeur pratique pour le diagnostic de l'état de gestation.

Collin et Florentin (1933), Drouet et Florentin (1933), se sont adressé à la grenouille entière placée dans des conditions invariables d'éclairement, de température et d'humidité. Ils leur injectaient de l'urine dans le sac lymphatique dorsal. Les résultats obtenus furent inconstants: des réactions se révélèrent positives en dehors de la grossesse, en particulier au moment des règles, d'autres se montrèrent négatives au cours de la grossesse. Les auteurs expliquèrent ce dernier fait par l'hypothèse d'une sécrétion intermittente de l'hormone mélanotrope par la pituitaire.

Puccioni et Sirotich (1933), effectuant les mêmes recherches avec le même procédé, trouvent un pourcentage moins fort de réactions positives ; le test est plus fréquemment positif pendant les quatre premiers mois de la grossesse ; il est presque toujours négatif à l'approche du terme.

Konsuloff, en 1934, propose une méthode de diagnostic de la gestation sur la grenouille hypophysectomisée dont il observe les changements de couleur *macroscopiques* après injection d'urine dans le sac lymphatique dorsal. Il prétend que sa réaction est sûre et spécifique. Elle fut en réalité critiquée

et cela n'est pas étonnant car la lecture macroscopique est une cause d'erreur.

Mandelstamm, en 1935, utilise un poisson entier, la bouvière (*Gastrosteus*). L'urine lui est injectée ou mêlée à l'eau de l'aquarium. La réaction positive se traduit par le noircissement du dos et des flancs. L'auteur déclare obtenir par ce moyen 75 % de résultats positifs dans les grossesses récentes, mais, malgré tout, un coefficient d'erreur atteignant 25 % nous paraît incompatible avec une utilisation clinique.

Binet, Verne et Mlle Luxembourg (1934), puis Mlle Luxembourg (1938) décrivent un test de grossesse basé sur la dilatation des mélanophores de l'écaille isolée du cyprin bronzé (*carassius vulgaris*) mise au contact *in vitro* avec des urines gravidiques ou mieux un extrait à l'acétone-alcool de ces urines. Dans une première série d'expériences (1934), 14 urines d'hommes donnèrent un résultat négatif et 18 urines de femmes enceintes, 18 réactions positives. Mais dans une deuxième série (1938), sur 15 urines d'homme, une se montra positive, et sur 68 urines de femmes enceintes, 28 restèrent négatives ou douteuses. Un cas de goître simple et un cas de fibrome utérin donnèrent en outre une réaction faiblement positive. Le pourcentage d'erreur reste donc considérable.

Enfin, Sawko, en 1943, utilisant la réaction zonale de la grenouille décérébrée prétend avoir enregistré, avec les urines gravidiques, 95 % de résultats exacts. Cependant que Richter (1944), dans un travail de vérification du test de Sawko, constate 22 réactions négatives avec des urines de femmes indubitablement enceintes.

Nous voyons donc en définitive qu'aucune de ces tentatives n'est suffisamment sûre pour donner lieu à une application pratique. Cela n'est pas pour nous surprendre maintenant que nous connaissons les multiples causes d'erreur liées aux moyens de dépistage utilisés.

III. — SUBSTANCES MÉLANOPHORO-DILATATRICES

Le manque de spécificité du test des mélanophores réalisé dans de mauvaises conditions techniques est en partie le fait que de nombreuses substances chimiques se sont révélées mélanophoro-dilatatrices. Les essais pharmacodynamiques sont très nombreux ; nous les classerons d'après la méthode employée pour tester l'activité des produits étudiés.

A. — SUBSTANCES ACTIVES SUR LES ANIMAUX ENTIERS

Les premiers essais chimiques furent réalisés par Hogben et Winton (1922-23) qui montrèrent que, mis à part les extraits pituitaires, *l'apocodéïne* et *la morphine* sont susceptibles de provoquer l'expansion des mélanophores d'une grenouille entière préalablement éclaircie par la lumière sur fond blanc. Ces deux substances ne sont d'ailleurs actives qu'à doses suffisantes pour provoquer la paralysie motrice. Or, nous avons observé sur nos animaux hypophysectomisés *que la dilatation préagonique des mélanophores se produisait de préférence lorsque la mort était précédée de paralysie.* Nous faisons donc des réserves sur la réalité de l'action dilatatrice de l'apocodéïne et de la morphine.

La plus grande confusion règne d'ailleurs dans les résultats obtenus avec d'autres substances sur la grenouille entière.

Ainsi Houssay et Ungar (1925) attribuent à l'*atropine* un effet mélanophoro-dilatateur ; ils n'indiquent pas la dose injectée. Au contraire, d'après Shen (1937) elle éclaircirait les animaux sombres et n'aurait aucune action sur les animaux clairs. Pour Teague, Noojin et Geiling (1938), une dose de 3 mgr. d'atropine reste sans effet sur les mélanophores examinés au microscope. Ce résultat est confirmé par S. Besson (1944) à l'aide de l'observation macroscopique des changements de couleur.

La pilocarpine est déclarée assombrissante par Kahn (1922).

Lesczynski en 1933, montre qu'elle éclaircit l'animal sombre à faible dose (5 mgr.!) et qu'elle noircit l'animal clair à forte dose (40 mgr.). Teague et ses collaborateurs, puis S. Besson, confirment l'effet assombrissant de la pilocarpine. Mais les grenouilles ne survivent pas à l'injection de telles quantités et il est vraisemblable que la dilatation préagonique ou post-mortem vient fausser les résultats.

Stutinsky (1934) note qu'une injection de *sérum sanguin* ordinaire ou de 1 cc. *d'extrait Choay placentaire, orchitique, ovarien, phyroïdien* ou *myocardique* donne une réaction mélanophorique positive sur la grenouille entière. Collin et Drouet (1935) reprennent ces expériences et, sans nier les résultats de Stutinsky, soutiennent la spécificité de l'expansion des cellules à mélanine en montrant que la dilatation ainsi obtenue est 200.000 fois plus faible qu'avec un extrait post-hypophysaire. Ils expliquent en outre l'action positive des divers extraits glandulaires par le fait qu'ils proviennent de glandes en relation avec la pituitaire et où l'on peut concevoir une accumulation tissulaire d'hormone mélanotrope. De toutes façons cette explication n'est pas valable pour les extraits myocardiques et de plus, il nous apparaît de manière beaucoup plus évidente que les défauts de la méthode de dépistage (animal entier) suffisent amplement à rendre compte de ces résultats anormaux.

D'autres substances telles que *la cocaïne, la nicotine, la strychnine, le chloroforme, l'éther, le nitrite d'anyle, le cardiazol, l'acetylcholine, le sympathol, le véritol* et *les barbituriques* (gardénal, véronal, luminal, dial, numal) ont été démontrées malanophoro-dilatatrices sur la grenouille entière par Shen (1937-39). A cette liste déjà longue, Bentejac ajoute *l'histamine* et S. Besson *la pyrocatéchine* et *l'hydroquinone*.

Il nous apparaît donc de toute évidence que le test des mélanophores pratiqué sur l'animal entier n'est en aucune manière spécifique de l'hormone mélanotrope.

B. — SUBSTANCES ACTIVES SUR LES MÉLANOPHORES ISOLÉS

Ici les recherches pharmacodynamiques sont moins abondantes.

Trendelenburg, en 1926, trouve que la peau isolée de grenouille ne réagit pas à l'atropine. Teague, Noojin et Geiling (1938) notent par le même procédé que les mélanophores se dilatent sous l'action de *la pilocarpine*. Par contre, M^lle^ Beauvallet (1935) observe que la pilocarpine reste inactive sur l'écaille isolée de poisson.

Ces quelques essais ne sont donc pas plus concordants que les précédents sinon pour démontrer encore une fois que l'emploi d'une technique imparfaite amène des contradictions continuelles dans les résultats.

C. — SUBSTANCES ACTIVES SUR LES ANIMAUX HYPOPHYSECTOMISÉS

Shen remarque, en 1937-39, qu'un très grand nombre de substances mélanophoro-dilatatrices sur l'animal entier perdent toutes propriétés de cet ordre sur la grenouille hypophysectomisée. Seuls resteraient actifs, d'après lui, l'atropine, l'ergotamine, la strychnine, l'acetylcholine, le sulfate de cuivre, l'éther, le chloroforme, le nitrite d'amyle et les barbituriques. Bentejac démontre au contraire que le gardénal à doses thérapeutique ne rend pas les urines mélonophoro-dilatarices puisque les urines de deux malades ayant absorbé 15 cgr. de ce produit demeurent inactives sur la grenouille privée de sa pituitaire. — En réalité les substances dont s'est servi Shen sont très toxiques et *tuent bien souvent l'animal*. Si l'on considère comme valable une réaction positive suivie de mort, on risque l'erreur par le phénomène de la dilatation préagonique. De plus, il n'est pas certain que toutes les hypophysectomies de Shen aient été totales, du moins n'en apporte-t-il pas la preuve. Pour ces deux raisons, nous considérons que les résultats qu'il a obtenus ne sont pas sûrs. D'ailleurs Teague et ses collaborateurs, en 1938, après une longue série d'essais, en arrivent à conclure que *les seuls produits mélanophoro-dilatateurs chez l'animal hypophysectomisé* sont les extraits pituitaires et d'une manière plus générale toutes les substances renfermant de l'hormone mélanotrope.

Nous avons, pour notre part, procédé à quelques essais sur

Rana esculenta totalement ou incomplètement hypophysectomisée.

Dans une première série d'expériences nous avons exposé des animaux, *totalement privés de pituitaire* (mélanophores dermiques au stade 1 d'Hogben, sans exception) et placés sous cloche de verre, à des substances gazeuses telles que l'éther, le chloroforme et le nitrite d'amyle. Les doses employées furent 10cc pour le chloroforme et l'éther et 10 gouttes pour le nitrite d'amyle. Le produit imbibait un coton placé dans une capsule de porcelaine. Nous indiquons dans le tableau ci-dessous le temps d'exposition et le poids de l'animal utilisé.

Ether :

Grenouille de 12 gr., exposition	3 minutes...	Pas de dilatation.
— 13 gr. —	5 — ...	—
— 12 gr. —	10 — ...	Pas de dilatation puis mort.

Chloroforme :

Grenouille de 15 gr., exposition	3 minutes...	Pas de dilatation.
— 12 gr. —	5 — ...	*Dilatation* suivie de mort.

Nitrite d'amyle :

Grenouille de 11 gr., exposition	5 minutes...	Pas de dilatation.

Dans une deuxième série d'essais nous avons injecté diverses solutions dans le sac lymphatique dorsal de grenouilles totalement ou incomplètement hypophysectomisées.

Hypophysectomie totale :

Benzoate d'œstradiol (benzogynœstryl)	
50.000 unités en solution huileuse	Pas de dilatation.
Hormone lutéïnique (lutogyl)	
5 mgr. en solution huileuse	Pas de dilatation.
Prolans urinaires (Antelobine Byla)	
100 unités-rat en solution dans 1cc	*Dilatation.*

Ephédrine : 1 mgr. en solution à 1/1.000 . . Pas de dilatation.

Extrait post-hypophysaire (Pitaphorin Sherring) 1/2 unité dans 1cc ..... *Dilatation intense.*

Hypophysectomie incomplète (index mélanophorique = 1,30) : Ephédrine : 1 mgr. en solution à 1/1.000 . . *Dilatation.*

En résumé nous voyons que la réaction s'est montrée positive dans quatre cas. Mais l'effet dilatateur du chloroforme a été suivi de mort de l'animal ; il s'agit vraisemblablement d'une dilatation préagonique. L'éphédrine a provoqué l'expansion mélanophorique sur l'animal *incomplètement* hypophysectomisé; elle est restée sans action, à la même dose, sur un animal totalement hypophysectomisé. Nous avons là un bel exemple de la cause d'erreur que peut constituer l'ablation imparfaite de la pituitaire avec pour conséquence la persistance de l'arc réflexe neuro-endocrinien de la régulation mélanophorique. Enfin la dilatation obtenue avec l'antelobine peut s'expliquer par le fait que ce produit est extrait d'urines de femelles gravides *contenant sûrement de l'intermédine.* Il n'est donc pas étonnant qu'il en renferme à titre d'impuretés d'où son pouvoir mélanophoro-dilatateur.

Nous concluerons donc en disant avec TEAGUE que la réaction des mélanophores sur un animal complètement hypophysectomisé est absolument spécifique de l'hormone mélanotrope et que les seules substances actives sont celles qui en contiennent.

CHAPITRE VI

L'ANIMAL RÉACTIF ET LA PRATIQUE DU TEST

A la suite de SERVANTIE et MORETTI, nous avons utilisé la grenouille hypophysectomisée pour étudier le test des mélanophores en tant que moyen de diagnostic biologique de la grossesse. Nous jugeons la réaction au microscope, et pour apporter le maximum de précision, nous l'évaluons quantitativement par le procédé des stades numériques d'HOGBEN. Nous pensons avoir convaincu le lecteur des avantages indiscutables d'une telle méthode au point de vue de la sécurité.

Il existe, en France, deux principales espèces de grenouilles: *Rana temporaria* et *Rana esculenta*. La première, encore appelée rainette rousse, est assez difficile à trouver dans nos régions et présente, en outre, l'inconvénient d'être très fragile, aussi lui avons-nous préféré *Rana esculenta*. Celle-ci est une grenouille verte ou gris-noir, tachetée de plaques plus foncées que le reste du corps, et d'un poids moyen de 10 à 75 grammes. Elle vit à peu près partout en France. Il est facile de se la procurer en toutes saisons, sauf en hiver, époque où elle s'enfouit dans la vase où on ne la découvre que difficilement. Cet inconvénient reste cependant très secondaire car l'extrême résistance de l'animal permet de le conserver, dans n'importe quel récipient à fond plat contenant simplement un peu d'eau, pendant toute la mauvaise saison, sans précautions spéciales

et sans nourriture ; la survie dans ces conditions atteint et dépasse souvent 4 mois.

I. – RAPPEL ANATOMIQUE

Hogben et Slome ont étudié, en 1931, la morphologie comparée du complexe hypophyso-pituitaire de plusieurs espèces de grenouilles (*Rana fuscigula, Rana temporaria, Rana esculenta*) et du crapaud armé d'Afrique du Sud (*Xenopus lævis*). Stutinsky, en 1939, apporte à son tour un travail histologique important sur la question. Nous nous bornerons au point de vue macroscopique et ne donnerons ici que l'aperçu général indispensable à la pratique de l'hypophysectomie.

Il convient tout d'abord de préciser qu'il est impossible, sous peine de confusion, de désigner les diverses parties du complexe hypophyso-pituitaire de la grenouille sous les mêmes termes que ceux par ailleurs employés chez les autres espèces animales. En effet, chez Rana esculenta, le lobe antérieur par exemple se trouve en réalité être postérieur, aussi adopterons-nous les dénominations suivantes :

— *Lobe principal ou distal*, pour pars anterior, lobe antérieur, lobe chromophile ;

– *Lobe intermédiaire ou pars intermedia*, pour lobe chromophobe ou lobe juxta-nerveux ;

— *Lobe nerveux ou pars nervosa*, pour lobe postérieur ou lobe infundibulaire ;

— *Lobes latéraux ou pars tubéralis.*

De ces quatre parties, deux seulement peuvent être individualisées à l'œil nu ou à la loupe, le lobe principal et le lobe intermédiaire. Le lobe nerveux et les lobes latéraux sont cachés et impossibles à différencier macroscopiquement.

Lorsque les premiers temps de l'hypophysectomie ont découvert la région hypothalamo-pituitaire, l'aspect morphologique est le suivant (voir fig. 1, d) :

A la partie toute antérieure du champ opératoire, on peut

apercevoir le chiasma optique caché sous le prolongement antérieur de l'os parabasal. Il n'est pas représenté sur la figure. On trouve ensuite, d'avant en arrière, l'hypothalamus, le lobe intermédiaire et le lobe principal. De chaque côté de la pituitaire se trouvent les deux masses nerveuses diencéphaliques.

1) L'Hypothalamus ou infundibulum a 2 mm. de long sur 1 mm. de large. Sa surface est parcourue par un sillon médian et sagittal, surtout net dans le 1/3 postérieur, qui détermine deux parties latérales renflées. Le bord postérieur de

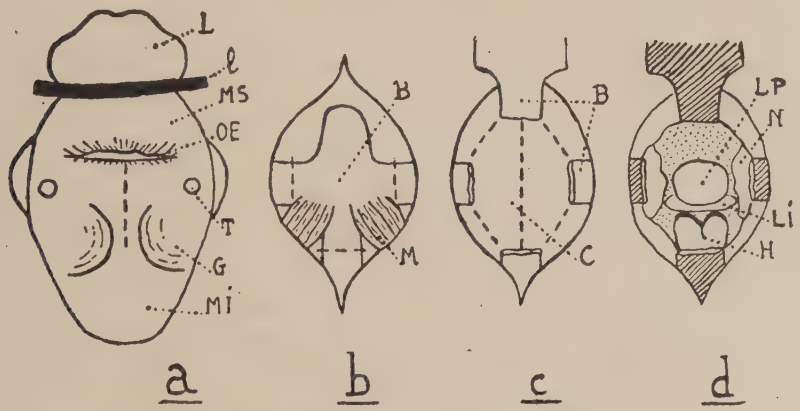

Fig. 1. — Temps opératoires de l'Hypophysectomie. — a = plan muqueux, b = plan osseux, c = plan cartilagineux, d = plan viscéral. — Les tirets indiquent les lignes de section.

G = globe oculaire, H = hypothalamus, L = langue, l = lien de caoutchouc, LI = lobe intermédiaire, LP = lobe principal, M = muscles moteurs de l'œil, MI = maxillaire inférieur récliné en arrière, MS = maxillaire supérieur, N = masse nerveuse diencéphalique, OE = œsophage, T = trompe d'Eustache.

l'infundibulum présente un léger épaississement qui cache complètement *le lobe nerveux,* adhérant par ailleurs à la pars intermédia. — On peut conclure de cette disposition morphologique chez *Rana esculenta* que le lobe nerveux, accolé à la pars intermédia dont il n'est séparé que par une mince lame conjonctive, est, en général, enlevé à l'opération.

2) Le lobe intermédiaire, en partie recouvert par le bord antérieur du lobe principal, se présente sous l'aspect d'une

formation allongée de couleur blanc nacré. Ses deux extrémités latérales s'insèrent sur la leptoméninge qui recouvre les masses nerveuses diencéphaliques. Il est en réalité formé, chez *Rana esculenta*, par la juxtaposition de la pars tubéralis en contact avec la tige pituitaire et de la pars intermédia, (SERVANTIE et collab., 1947).

3) LE LOBE PRINCIPAL, flanqué de chaque côté par les cornes du lobe intermédiaire, est rosé, ovoïde et parcouru par un très fin réseau de capillaires superficiels. Il mesure 1 à 2 mm. de large sur 1/2 à 1 mm. dans le sens antéro-postérieur. Son bord antérieur est en rapport intime avec la pars intermédia qu'il recouvre plus ou moins ; son bord postérieur est convexe et libre.

L'hypophysectomie partielle n'est réalisable correctement que pour le lobe principal. L'ablation isolée de la pars intermédia est difficile car le lobe nerveux, très adhérent, est la plupart du temps enlevé avec elle ainsi que la pars tuberalis..

II. – TECHNIQUE D'HYPOPHYSECTOMIE

Les techniques proposées jusqu'à présent par divers expérimentateurs, en particulier HOGBEN puis SHEN, avaient le défaut d'enlever la pituitaire par des moyens traumatisants et imparfaits. Il en résultait une survie post-opératoire souvent écourtée et surtout, la plupart du temps, une hypophysectomie *incomplète* introduisant une cause d'erreur que nous avons mise en évidence dans le précédent chapitre.

Le procédé que nous allons décrire fut étudié dès 1938 par SERVANTIE (in *Thèse* BENTEJAC) et en 1944 par CAMBAR. La mise au point définitive, toute récente, fut réalisée par MM. SERVANTIE, CAMBAR, MORETTI et BONNAL et publiée en 1947. Nous avons quelque peu modifié la technique de ces auteurs afin de raccourcir la durée de l'intervention.

Il est préférable de ne pas utiliser des animaux trop gros car l'opération est alors rendue difficile et traumatisante par

l'ossification plus poussée du basisphénoïde et l'épaisseur plus grande du cartilage. La survie étant, dans ces conditions, bien moins longue, nous nous sommes efforcé de n'employer que des grenouilles de 10 à 20 grammes.

A. — ANESTHÉSIE

Elle est nécessaire si l'on veut éviter que l'animal remue et gêne considérablement l'opérateur. L'anesthésique de choix est l'éther, il est en effet peu toxique (contrairement au chloroforme) et très bien supporté. Sous une cloche de verre de deux litres, on place une cupule de porcelaine contenant un tampon de coton imbibé de 10^{cc} environ d'éther anesthésique. — Le coton a pour but d'éviter que la grenouille en s'agitant ne renverse le liquide. — On attend quelques minutes, pour que l'atmosphère de la cloche se sature de vapeurs anesthésiques, puis on introduit l'animal. L'anesthésie est suffisante en pratique lorsque la grenouille, mise sur le dos, ne remue plus ; cela demande de 3 à 5 minutes suivant que la température ambiante est élevée ou basse. Il y a intérêt à ne pas donner de trop longues anesthésies car l'animal en souffre et ne survit ensuite que quelques heures ou quelques jours.

B. — INTERVENTION

Le matériel opératoire est très simple ; il comprend :

— *Une table opératoire* constituée en substance par une plaque de liège rectangulaire (15 cm. × 8 cm. × 2 cm.) présentant à son extrémité antérieure un prolongement de 3 cm. de large creusé d'une gouttière transversale destinée à loger les globes oculaires de l'animal placé sur le dos. La fixation se fait à l'aide de lames de caoutchouc retenues par des épingles et immobilisant les deux membres postérieurs, les membres antérieurs et le maxillaire supérieur sur le plan de la table. Une dernière lame élastique sert à rabattre le maxillaire inférieur et la langue contre le thorax de l'animal qui présente ainsi sa voûte palatine à l'opérateur (voir fig. 1, a).

— *Un éclairage latéral* constitué soit par une lampe à inten-

sité réglable grâce à un rhéostat, soit plus simplement par une lampe de bureau orientable et de puissance suffisante.

— *Une loupe binoculaire.*

— *Une paire de petits ciseaux* droits à pointes très fines.

— *Deux pinces* fines, solides, acérées et coupantes.

— *Des petites mèches de coton* en forme de grain d'avoine pour l'hémostase.

— *Accessoirement :* une paire de ciseaux courbes, une aiguille courbe à suture cornéenne et du fil de soie très fin.

On peut décomposer l'opération de l'hypophysectomie en cinq temps :

1) Incision de la muqueuse (fig. 1, a)

On la fait avec les ciseaux droits. De longueur variant entre 5 et 10 mm. suivant la grosseur de l'animal, elle doit être médiane, sagittale et répartie de façon égale de part et d'autre d'une ligne unissant les deux trompes d'Eustache. Il est nécessaire qu'elle soit faite strictement médiane si l'on veut éviter carotides et artères palatines qui sont longitudinales et courent de chaque côté à 2 ou 3 mm. — Après avoir écarté les lèvres de la plaie, on aperçoit le plan osseux constitué par l'os parabasal.

2) Résection de l'os parabasal (fig. 1, b)

L'os parabasal ou basisphénoïde constitue la base du crâne de la grenouille. Il a la forme d'une croix avec un prolongement antérieur, deux latéraux et un postérieur. La pituitaire se trouve au-dessous de son point central et il est parfois possible de la voir par transparence.

Avec les pinces, on désinsère tout d'abord les muscles moteurs de l'œil. Ceci permet, en dégageant parfaitement l'os parabasal, de faciliter sa section et de la rendre par suite moins traumatique. A l'aide des ciseaux droits que l'on prend soin de placer toujours bien parallèlement au champ opératoire, on sectionne alors le prolongement antérieur à un millimètre en arrière du chiasma optique visible par transparence.

La section des prolongements latéraux se fait, de la même manière, en un point situé à 2 mm. de la ligne médiane. On soulève ensuite le volet osseux avec les pinces et on le rabat en arrière en se servant du prolongement postérieur comme charnière. On prend soin de ne pas le détacher complètement afin de pouvoir le remettre en place dans le dernier temps de l'opération car il constituera pendant la survie une protection efficace des centres nerveux. Pour éviter qu'il gêne la suite de l'intervention, on peut l'engager sous la muqueuse palatine préalablement soulevée.

3) Morcellement et ablation du cartilage (fig. 1 c)

Au-dessous du plan osseux dont on s'est débarrassé, on aperçoit une lame cartilagineuse assez épaisse et brillante. C'est le dernier obstacle à franchir avant d'atteindre la pituitaire, c'est aussi celui qui, à notre avis, demande le plus de patience.

Sous la loupe binoculaire, on l'incise longitudinalement sur la ligne médiane soit avec les ciseaux droits, soit de préférence avec la pince coupante. De part et d'autre de cette incision, on abrase largement le cartilage à la pince jusqu'à la limite de la destruction osseuse. Il convient de procéder à cette manœuvre avec beaucoup de délicatesse car les carotides et les centres nerveux ne sont pas loin ! Il faut également prendre soin de bien dégager les cornes latérales du lobe intermédiaire ; une découverte imparfaite du champ opératoire sur les côtés est souvent une cause d'ablation incomplète rendant l'animal inutilisable.

4) Ablation de la pituitaire (fig. 1, d)

Elle se fait également sous loupe binoculaire. C'est le temps majeur de l'intervention ; de son exécution correcte dépend la réussite.

Quelques légers tractus conjonctifs qui unissent le lobe principal au lobe intermédiaire servent à extérioriser ce dernier. Un procédé très simple pour parvenir à ce résultat consiste à saisir le lobe principal par son bord postérieur et à le rabattre en avant autour de l'axe formé par le lobe intermédiaire.

Avec les deux pinces, tenues obliquement à 45°, on saisit alors *simultanément* les extrémités latérales de la pars intermédia le plus près possible de leur insertion sur la leptoméninge et on attire doucement la pituitaire hors du champ opératoire. Il vaut mieux au besoin dilacérer un peu les masses nerveuses diencéphaliques, lors de la préhension et de l'ablation des cornes du lobe intermédiaire, plutôt que de laisser en place un fragment glandulaire, si petit soit-il.

L'ablation bilatérale simultanée est indispensable car un gros capillaire fonctionnel parcourt dans toute sa longueur la pars intermédia d'une leptoméninge à l'autre et, si un côté est arraché seul, l'hémorragie consécutive est suffisante pour empêcher une ablation exacte du côté opposé. Dans le cas où cet accident se produit, il faut alors éponger avec une mèche de coton ; malgré cela, l'hémorragie, entretenue la plupart du temps par la recherche prolongée de l'extrémité récalcitrante, persiste et finit par tuer l'animal, à plus ou moins brève échéance.

Lorsque l'hypophysectomie proprement dite est faite il convient d'essuyer soigneusement les pinces avant de les reporter dans la plaie car elles pourraient être le support d'une minime fraction de lobe intermédiaire susceptible de se réimplanter ultérieurement dans le caillot sanguin.

L'extirpation, même parfaitement exécutée, est suivie d'une petite hémorragie que l'on arrête facilement avec un tampon de coton et qui n'est jamais grave. La pituitaire une fois enlevée, on aperçoit au travers de la brèche ostéo-cartilagineuse les centres nerveux sous-jacents recouverts par un feuillet méningé piqueté de points noirs qui sont des mélanophores viscéraux.

5) Fermeture de la plaie

Le volet osseux formé par l'os parabasal est rabattu à la manière d'un couvercle et remis dans la position où il se trouvait avant l'opération. Les deux lèvres de l'incision muqueuse sont simplement rapprochées à la pince. Nous ne faisons pas la suture au fil de soie comme Servantie et collab. (1947) ou Bonnal (1946) ; ce temps opératoire, nécessaire lors-

que l'on procède à la résection perdue de l'os parabasal, est inutile si la protection des centres nerveux est réalisée par un plan osseux remis en place ; le simple affrontement des deux lèvres de la plaie suffit à la cicatrisation.

La durée totale de l'intervention ainsi réalisée n'excède pas 5 minutes lorsque l'opérateur est un peu entraîné.

III. – L'ANIMAL OPÉRÉ

A. — SUITES POST-OPÉRATOIRES NORMALES

L'anesthésie cesse très rapidement si l'on a pris soin de ne pas trop la pousser. En général la grenouille a repris ses mouvements au bout d'un quart d'heure environ, parfois même elle s'agite dès qu'elle est placée dans l'eau.

Une demi-heure après l'intervention, l'animal commence à pâlir progressivement ; il arrive à son maximum d'éclaircissement en 1 à 2 heures. Sa teinte varie alors du jaune paille au vert clair, mais elle est absolument fixe et définitive pour chaque grenouille. Malgré cette décoloration, la peau conserve le dessin des taches initiales résultant, nous le rappelons, d'une densité plus forte des mélanophores et non de leur dilatation. Les variations de couleur individuelles sont également le fait du nombre et de la proportion des divers types de chromatophores (mélanophores, lipophores, guanophores).

La survie post-opératoire moyenne est de un mois environ ; elle est plus courte pendant les mois d'avril et juin, période d'activité sexuelle maximum pendant laquelle les animaux, affaiblis en outre par un long hivernage, se révèlent très fragiles.

On conserve les sujets opérés, *sans nourriture*, dans un cristallisoir avec au fond un centimètre d'eau environ que l'on change tous les jours. Il ne faut pas mettre trop d'eau sinon, quand l'anesthésie n'est pas terminée on risque de noyer la grenouille, et quand l'animal est complètement réveillé, on l'oblige à tenir constamment la tête très haute pour respirer. Lorsque cette attitude se prolonge pendant plusieurs semaines, on conçoit que le sujet se fatigue.

La survie relativement longue des animaux après l'intervention est intéressante à considérer car elle permet la constitution d'une réserve de grenouilles prêtes à être employées pour le diagnostic de la grossesse à n'importe quel moment.

Il est bien entendu que l'animal injecté plusieurs fois finit par mourir au bout d'un temps beaucoup plus court, variable d'ailleurs avec le rythme et la nature des passages. Cependant sa résistance est parfois étonnante et nous avons eu l'occasion d'observer cet hiver des grenouilles, depuis quatre mois sans nourriture, survivant à la 6e injection un mois et demi après l'hypophysectomie. Ce sont là, il faut le dire, des cas un peu exceptionnels.

Dans le but d'étudier la résistance des animaux réactifs, nous avons noté, tout au long de notre expérimentation, les détails relatifs à cette question. Voici les résultats d'ensemble que nous avons obtenu :

124 grenouilles ayant résisté à l'hypophysectomie ont été employées. Elles nous ont permis de réaliser 344 tests des mélanophores dont 86 ont malheureusement dû être annulés *par suite de la mort de l'animal en cours d'expérience* après un nombre variable d'injections et de réactions valables.

A ce propos ouvrons une parenthèse. Nous savons que, dans l'heure qui précède la mort, les mélanophores sont susceptibles de subir *la dilatation pré-agonique*. Ce phénomène n'est pas constant, mais comme on ne peut pas le prévoir, *nous avons systématiquement considéré comme nulle toute expérience au cours de laquelle l'animal ne survivait pas plus de 4 ou 5 heures à l'injection*. Nous pensons nous être ainsi préservé d'une cause d'erreur importante.

Sur les 124 grenouilles dont nous nous sommes servi, 12 sont mortes peu après la première injection, constituant un déchet de base de 9,6 %. *C'est donc en définitive sur 112 animaux que nous avons effectué les 258 tests valables présentés ici.* La résistance aux injections s'est répartie de la manière suivante :

112 grenouilles ont résisté à 1 injection, soit 90 %.
63 — — 2 — — 50 %.
46 — — 3 — — 37 %.

21	—	—	4	—	17 %.
9	—	—	5	—	7 %.
4	—	—	6	—	3 %.
3	—	—	7	—	2,5 %.

Nous n'avons pas tenu compte, dans cette statistique, de l'intervalle de temps séparant les injections. Il est évident que des passages d'urine répétés tous les jours tuent beaucoup plus rapidement la grenouille que des injections séparées par plusieurs jours de repos. Or, les circonstances nous ont amené, le plus souvent, à pratiquer sur le même animal plusieurs réactions successives à 24 heures d'intervalle. Autrement dit, nous avons sacrifié les conditions optimum de survie au désir de multiplier les expériences. Les résistances que nous avons enregistré sont donc plutôt en dessous des possibilités.

B. — MORTALITÉ ET COMPLICATIONS OPÉRATOIRES

La mort au cours de l'intervention est exceptionnelle lorsque l'opérateur est entraîné et moyennement adroit. Elle peut être due à une hémorragie ou à une lésion des centres nerveux.

Hémorragie. — Les carotides internes, prolongées en avant des branches transversales de l'os parabasal par les artères palatines, ont un trajet parallèle à la ligne médiane dont elles ne sont pas très éloignées. Leur blessure amène une hémorragie cataclysmique rapidement mortelle malgré toutes les tentatives d'hémostase.

Pour éviter cet accident, en particulier lors de la section des prolongements latéraux de l'os parabasal, nous exécutons cette dernière opération sous la loupe binoculaire. Il est alors facile d'éviter les vaisseaux après les avoir repéré soit par transparence, soit en soulevant légèrement la muqueuse avec une pince. On peut aussi couper l'os parabasal le plus près possible de la ligne médiane (Servantie et collab., 1947) mais on s'expose alors à un dégagement insuffisant des portions latérales du champ opératoire. Il en résulte une gêne considérale pour enlever totalement les deux cornes du lobe intermédiaire.

La blessure des centres nerveux, exceptionnelle, est la plupart du temps le fait d'un opérateur mal entraîné ; elle pro-

voque la mort de l'animal immédiatement ou dans les quelques heures qui suivent l'intervention. Il est facile de l'éviter en tenant toujours les ciseaux ou les pinces parallèlement au plan opératoire; autrement dit, il faut travailler constamment « en surface » et jamais en profondeur.

Parmi les autres lésions nerveuses possibles, il faut citer *la section du nerf vestibulaire*. Ce nerf, recouvert par les muscles moteurs de l'œil et parallèle à la ligne médiane, s'engage sous la branche latérale de l'os parabasal au niveau de son bord antérieur. Sa section d'un seul côté provoque un spasme de torsion avec incurvation de la grenouille en arc de cercle du côté lésé. De plus, quand l'animal saute, il décrit un mouvement de vrille et retombe en général sur le dos.

Cet accident se produit surtout au moment de la section des prolongements latéraux du basisphénoïde et de la désinsertion des muscles oculo-moteurs. Pour l'éviter, il convient de manipuler en surface et d'opérer sous le contrôle de la loupe binoculaire. Une désinsertion musculaire prudente permet de repérer le nerf qui bifurque en fourche avant de disparaître sous l'os parabasal. La section unie ou bilatérale du nerf vestibulaire ne constitue d'ailleurs pas une lésion grave ; elle est compatible avec une survie et une utilisation normale de la grenouille.

Œdème post-opératoire. — Le lendemain de l'intervention il arrive exceptionnellement de constater chez les animaux opérés un œdème considérable qui peut arriver à doubler le volume du sujet. Cette complication s'accompagne rarement d'une survie prolongée. Elle fut étudiée par Jarkowska, en 1932, et serait due, d'après cet auteur, à une lésion du IIIe ventricule. L'explication ne nous semble pas suffisante car nous avons observé un œdème semblable chez une grenouille, 27 jours après l'opération. Il y a donc vraisemblablement intervention d'un autre facteur sans lequel un effet aussi tardif reste difficile à concevoir.

Troubles trophiques. — Il est possible, dans certains cas, d'observer à la suite de l'hypophysectomie et au niveau de l'extrémité des membres postérieurs des troubles trophiques de deux ordres. Ou bien il s'agit d'un déchaussement progressif

du squelette des phalanges terminales, ou bien d'une nécrose hémorragique des membranes interdigitales. Ces phénomènes assez tardifs, parfois associés, et heureusement rares, rendent l'animal inutilisable pour le test. Ils sont vraisemblablement sous la dépendance de lésions du système nerveux végétatif.

Bonnal (1946) a signalé comme complication post-opératoire inconstante un *myosis unilatéral gauche* dont il n'a pu déterminer la cause.

Enfin, les complications infectieuses ne sont pas à redouter car la grenouille est un animal à sang froid chez lequel les germes microbiens ne se développent pas, aussi utilisons-nous au cours de l'intervention du matériel non stérilisé.

Cette longue énumération d'accidents possibles peut amener à penser que l'hypophysectomie chez la grenouille est une opération très difficile et grevée d'une lourde mortalité. En réalité il n'en est rien et, mis à part les tâtonnements inévitables du débutant, qui sont d'ailleurs de courte durée, les complications graves sont rares, les résultats satisfaisants et la mortalité pratiquement nulle. Nous devons cependant signaler que les animaux capturés en avril-mai sont beaucoup plus fragiles pour les raisons que nous avons déjà exposées ; ils saignent davantage à l'intervention et donnent lieu à un déchet un peu plus élevé que les grenouilles d'été et d'hiver qui sont les plus résistantes.

C. — VALEUR DE L'ANIMAL RÉACTIF

L'observation macroscopique de l'éclaircissement de la grenouille ne suffit pas pour juger si l'hypophysectomie est totale. Nous avons déjà dit que parler de teinte chez cet animal n'a aucune signification tant les variations individuelles peuvent être importantes. Les mélanophores d'un animal très clair sont parfois en semi-dilatation ; inversement une grenouille paraissant incomplètement décolorée peut avoir ses cellules à mélanine complètement contractées. La discordance possible entre la couleur et l'aspect microscopique s'explique par le fait que les guanophores et les lipophores participent, en même temps que les mélanophores, à la détermination de la teinte. Avant

d'accepter un animal-test comme valable, il est donc indispensable de le vérifier au microscope après l'hypophysectomie.

Quand l'ablation de la pituitaire est complète, tous les mélanophores de la membrane interdigitale des pattes postérieures doivent être en contraction totale, c'est-à-dire, au stade 1 d'HOGBEN (voir fig. 3 et 8). Il faut en particulier rechercher les cellules à mélanine incomplètement rétractées le long des bords libres et adhérents de la membrane interdigitale.

Tout animal présentant des mélanophores en ébauche de dilatation doit être formellement éliminé. Un manque de rigueur sur ce point exposerait à de graves erreurs car les contractions incomplètes sont dues à des hypophysectomies défectueuses. La preuve en fut apportée par SERVANTIE, CAMBAR, MORETTI et BONNAL (1947), grâce à des coupes histologiques pratiquées en série. Dans certains cas c'est un fragment de lobe intermédiaire qui reste attaché à la leptoméninge, dans d'autres, de minces parcelles glandulaires se réimplantent secondairement dans le caillot sanguin. Pour éviter cela, il faut pratiquer une ablation exacte de la pars intermédia à ses insertions ; après l'ablation il faut également essuyer ses pinces avant de les reporter dans la plaie ; enfin, il est recommandé de bien éponger le sang qui a rempli la cavité opératoire avant de rabattre le couvercle osseux.

Un fragment de lobe intermédiaire demeurant en place sécrète insuffisamment pour provoquer une dilatation complète, assez cependant pour qu'un certain nombre de mélanophores arrivent aux stades 2 et 3 d'HOGBEN. Il en résulte une difficulté dans la lecture des effets dilatateurs légers; mais le plus grave inconvénient est que les portions glandulaires oubliées ou réimplantées rétablissent la chaîne neuro-endocrinienne de la fonction mimétique et réintroduisent ainsi une cause d'erreur capitale. La nécessité absolue d'écarter toute grenouille dont tous les mélanophores *sans exception* ne sont pas au stade 1 est ainsi mise en évidence. Si les précautions précédemment indiquées ont été prises et si l'opérateur est moyennement entraîné, cela conduit à éliminer environ un animal sur cinq.

— *La technique de vérification microscopique* des animaux opérés est très simple. Le matériel nécessaire comprend :

— Un microscope muni d'un objectif n° 3 et d'un objectif n° 6.

— Une plaque de liège épaisse de 3 à 5 mm. et perforée d'un orifice circulaire de un centimètre de diamètre.

La vérification se fait le lendemain de l'opération. L'animal vivant est immobilisé dans la main gauche à l'aide d'un carré de toile ; une de ses pattes postérieures, maintenue entre le pouce et l'index de la même main, est placée sur la plaque de liège perforée. La membrane interdigitale est tendue par deux épingles au-dessus de la perforation. Le tout est porté sur la platine du microscope et la membrane examinée par transparence.

L'objectif 3 donne un aperçu d'ensemble des mélanophores et l'objectif 6 permet de rechercher dans le détail ceux qui sont incomplètement rétractés.

A ce propos nous rappelons qu'il ne faut tenir compte que des mélanophores dermiques. Les mélanophores épidermiques par ailleurs décrits peuvent en effet rester dilatés *même après hypophysectomie totale ;* ils sont plus petits, plus pâles, moins riches en expansions et situés dans un plan plus superficiel, il sera donc facile de les différencier et de les laisser de côté.

La vérification de l'animal doit se faire non seulement après l'opération, mais encore *avant chaque injection* de manière à s'assurer que l'injection précédente a cessé d'agir et que la totalité de l'hormone mélanotrope qu'elle contenait est éliminée. Ce point a son importance ; nous avons, en effet, signalé que par temps froid, le métabolisme de l'animal est très ralenti ; il peut alors s'écouler plusieurs jours avant que le produit injecté ne soit complètement éliminé.

IV. — PRATIQUE DU TEST

A. — INJECTION DES PRODUITS BIOLOGIQUES

L'injection des produits dont on veut tester l'activité mélanophorique se pratique dans le sac lymphatique dorsal, à l'aide d'une seringue de 3^{cc}, munie d'une aiguille à injections hypo-

dermiques. Il ne faut pas injecter directement à travers la peau du dos car on s'expose alors à un reflux du liquide par l'orifice de la piqûre. Nous avons injecté l'urine de femme enceinte à nos grenouilles en quantité correspondante au 1/10 du poids de l'animal et tous nos résultats quantitatifs sont basés sur cette dose standard. On comprend dès lors qu'une perte de liquide par reflux risquait de fausser toute évaluation numérique. Elle risquait aussi, étant donné la faible concentration urinaire de l'hormone mélanotrope, de constituer une cause d'erreur en négativant des réactions qui auraient été positives avec toute la dose standard.

Pour éviter le reflux, nous employons la technique préconisée par SERVANTIE et ses collaborateurs. L'animal est tenu par ses deux membres postérieurs allongés côte à côte ; le ventre est placé contre la table. On pique la peau de la face externe de la cuisse à 1 cm. de la racine du membre ; l'aiguille est ensuite poussée obliquement *à travers les muscles de la cuisse* dans la direction d'un point situé au milieu du dos ; on la fait arriver immédiatement sous la peau à la hauteur de la racine du membre puis, en la maintenant sous-cutanée on la fait encore progresser d'un à deux centimètres suivant la grosseur de l'animal ; on est alors dans le sac lymphatique dorsal dans lequel on injecte lentement le liquide utilisé.

Lorsque l'on retire l'aiguille, les muscles ferment le trajet et aucun reflux ne se produit.

B. — LECTURE DU TEST-INDEX MÉLANOPHORIQUE

La technique employée pour lire le test est la même que celle décrite ci-dessus pour la vérification de l'animal après hypophysectomie. Nous n'y reviendrons pas.

L'évaluation de la dilatation doit se faire à l'objectif 6 et dans des champs microscopiques aussi variés que possible.

On compte les mélanophores de chaque stade (voir ci-dessous fig. 2 à 8) jusqu'à un total général de 100. Le nombre des cellules dénombrées à un stade déterminé est multiplié par le numéro correspondant de ce stade. On additionne les nombres ainsi

obtenus et on divise par 100. Le résultat de cette opération est *l'index mélanophorique* (I. M.).

Pour mieux illustrer ce qui précède, prenons un exemple :

A une grenouille hypophysectomisée, pesant 14 gr., et dont les mélanophores sont tous au stade 1, on a injecté à 14 heures, 1cc,4 d'une urine de femme enceinte de 1 mois et demi en menace d'avortement (voir tableau I, expérience n° 31).

1) *Lecture à 14 h. 30 :*

Mélanophores à	1 : 16 × 1	16
—	2 : 84 × 2	168
—	3 : 0	
—	4 : 0	
	5 : 0	
	100	*184*

Index mélanophorique (I. M.) = 1,84.

2) *Lecture à 15 heures :*

Mélanophores à	1 : 12 × 1	12
—	2 : 41 × 2	82
—	3 : 47 × 3	141
—	4 : 0	
—	5 : 0	
	100	*235*

Index mélanophorique (I. M.) = 2,35.

Pour chaque test nous avons en général procédé à trois ou quatre lectures séparées par une demi-heure d'intervalle.

C. — PRÉCISION DE L'INDEX

L'index mélanophorique a l'avantage de pouvoir donner une idée sur un ensemble de mélanophores à des stades variés. Sa précision est certaine à condition toutefois de bien différencier chacun des stades d'Hogben. Nous nous sommes efforcé de faciliter cette discrimination à l'aide des six microphotographies et du schéma des figures 2 à 8. *Aucune de nos photos n'a été retouchée,* aussi est-il possible d'y apercevoir en flou les mélano-

phores de la face inférieure de la membrane interdigitale. Il ne faut pas les compter dans la numération ; il en est de même pour les mélanophores épidermiques que l'on peut apercevoir, contractés, dans les figures 2, 4 et 7. Certaines imperfections de détail sont dues au fait que l'animal a été photographié *vivant*.

On voit qu'*au stade 1*, la cellule est arrondie, ovalaire ou réniforme, mais toujours à limites régulières. On peut rencontrer une ou deux incisures, mais jamais des aspérités.

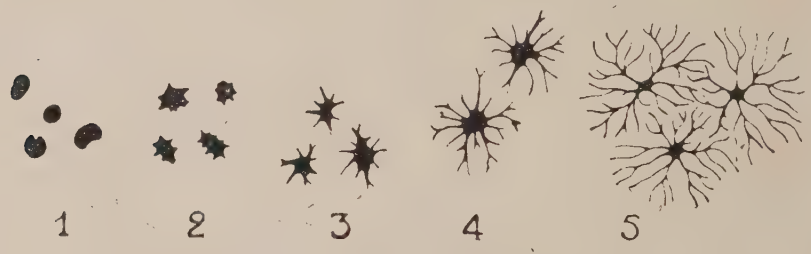

Fig. 8 : Stades mélanophoriques d'Hogben
(*D'après Servantie et collab.*)

Le stade 2 est formé d'éléments présentant des expansions courtes et non bifurquées. *L'aspect général est dentelé.*

Au stade 3, les mélanophores ont des expansions plus longues, rectilignes et parfois bifurquées.

Au stade 4, les prolongements sont plus nombreux, bifurqués ou trifurqués, plus ou moins sinueux et très allongés. Le diamètre du centre cellulaire est inférieur au tiers du diamètre total de la cellule.

Enfin le stade 5 est caractérisé par un centre cellulaire très petit, des arborisations longues, extrêmement divisées et très sinueuses formant avec celles des cellules contiguës une apparence de réseau ininterrompu dont toutes les parties ne sont d'ailleurs pas dans le même plan.

Avec un peu d'entraînement, il est facile de distinguer rapidement ces divers stades de telle sorte que la durée d'une lecture portant sur 100 éléments arrive à ne pas dépasser cinq minutes.

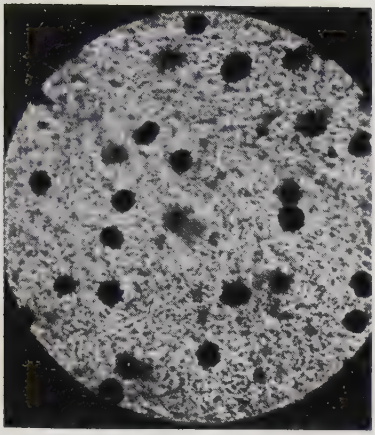

Fig. 2. — Mélanophores au stade 1 (Animal hypophysectomisé)

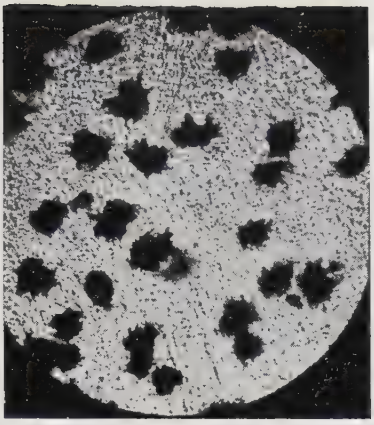

Fig. 3. — Mélanophores au stade 2

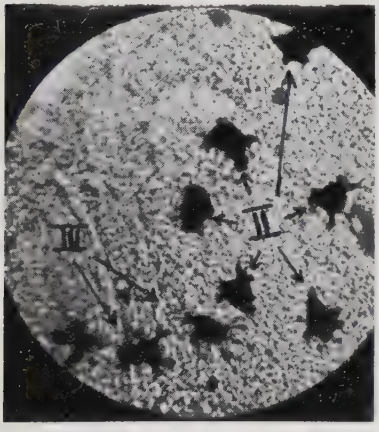

Fig. 4. — Mélanophores aux stades 2 et 3

Fig 5. — Mélanophores au stade 4

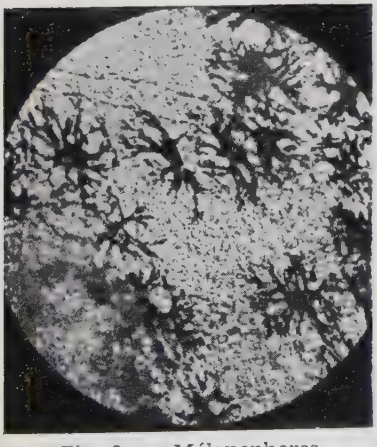

Fig. 6. — Mélanophores intermédiaires aux stades 4 et 5

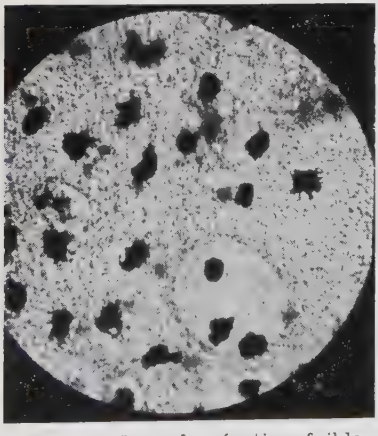

Fig. 7. — Type de réaction faiblement positive en 30 minutes. Grossesse de 3 mois 1/2 — Index = 1,65

Cependant la précision n'est pas absolue car la dilatation est un phénomène *continu* et le système d'Hogben une représentation *discontinue*. Il est évident que l'on pourra par exemple hésiter sur le symbole numérique d'un mélanophore intermédiaire aux stades 3 et 4 ; il y a dans les formes de passage un facteur d'appréciation personnelle. Par suite, des observateurs différents pourront, sur le même animal ou dans les mêmes conditions, ne pas trouver des index mélanophoriques absolument identiques ; mais, en pratique, et pour des lecteurs expérimentés, l'écart reste faible et la différence dans les résultats est au maximum de 0,10.

Toujours en raison de la progression continue de la dilatation, le temps intervient dans le résultat quantitatif ; c'est pourquoi, dans nos expériences, nous avons pratiqué les lectures toujours de la même manière, en l'occurence 30 minutes, 1 heure, 1 heure 30 et 2 heures après l'injection.

En résumé, si l'on injecte toujours la même quantité de produit par rapport au poids de l'animal (le 1/10 du poids par exemple), si l'on différencie bien les stades de dilatation, et si l'on effectue les lectures dans des délais toujours identiques, on aboutit, dans la numération quantitative, à une précision considérable.

CHAPITRE VII

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Servantie et Moretti ont les premiers signalé que le test des mélanophores, pratiqué de la manière que nous venons d'indiquer, est constamment positif avec les urines de femmes enceintes et constamment négatif chez la femme et l'homme normaux ainsi que dans des cas de maladie d'Addison, de cirrhose pigmentaire, de maladie de Basedow, d'acromégalie, d'adéno-épithéliome hypophysaire, de cirrhose alcoolique et dans un certain nombre d'affections chirurgicales et médicales.

L'Epée eut incidemment l'occasion de pratiquer, avec des urines gravidiques, 25 réactions sur des grenouilles hypophysectomisées par Bonnal ; toutes furent positives.

Notre propre expérimentation porte sur 258 tests mélanophoriques dont 144 réalisés avec des urines de femmes enceintes, 66 avec des urines non gravidiques et 48 avec diverses substances chimiques ou divers extraits préparés dans un but de concentration. Toutes nos réactions sont quantitatives et affectées d'un ou plusieurs index mélanophoriques ; nous les avons centralisés en trois tableaux.

I. – RESULTATS DANS LA GROSSESSE

Le tableau I résume l'expérimentation au cours de la grossesse. 131 réactions sur 144 furent positives. Dans tous ces cas la confirmation clinique ou chirurgicale de la gestation a pu être obtenue. Pour certaines grossesses très précoces, nous avons pratiqué le test des mélanophores parallèlement à la réaction de FRIEDMANN sur la lapine sans qu'il y eût toujours accord entre les deux méthodes de diagnostic.

Dans l'expérience 57, par exemple, le diagnostic clinique entre fibrome et grossesse étant hésitant, on pratiqua une réaction de FRIEDMANN qui fut négative, à la suite de quoi, une laparotomie révéla la grossesse. Le test des mélanophores effectué une heure après l'intervention *se montra très fortement positif.*

Le cas n° 93 est encore plus démonstratif. Il s'agissait d'une femme jeune en aménorrhée depuis un an ; elle entre dans le service du Pr MAGENDIE, soupçonnée par son médecin d'être atteinte d'un fibrome. Le diagnostic clinique de grossesse de cinq mois est très fortement envisagé à l'hôpital ; pour vérification, on fait faire une réaction de FRIEDMANN puis une réaction de BROUHA sur deux souriceaux mâles ; les résultats restent négatifs En désespoir de cause on pratique une riadiographie qui montre la présence d'un fœtus. *Entre temps le test des mélanophores avait été indiscutablement positif.* Peu après la malade sent remuer.

Ces deux observations montrent que la confirmation de la grossesse par la réaction de FRIEDMANN n'est pas un critère sur lequel on puisse absolument se fier, aussi nous sommes-nous appliqué à rechercher la seule confirmation indiscutable en pareil cas, celle du temps et de l'évolution. La tâche nous a souvent été facilitée en cela par M. le Pr RIVIÈRE et M. le Pr MAGENDIE.

Nous ne rentrerons pas dans le détail de toutes les grossesses

banales qui ont donné un résultat positif mais nous nous étendrons par contre un peu plus sur quelques cas particuliers.

Nous verrons à propos de l'étude du tableau II que la présence *démontrée* d'un fœtus mort in utéro s'est toujours accompagnée d'une réaction négative (II, 157, 158 et 159). Par ailleurs, chez un certain nombre de femmes enceintes en menace d'avortement, nous avons pu enregistrer des index mélanophoriques particulièrement faibles alors que dans d'autres cas cliniques identiques, ils étaient au contraire très élevés. Si l'on fait le rapprochement, il est possible de penser, sans pouvoir cependant l'affirmer, qu'*une menace d'avortement consécutive à la mort de l'œuf donne une réaction faible et qu'une menace d'avortement avec œuf vivant donne une réaction très intense.*

Dans un autre ordre d'idées, un cas de grossesse associée à un cancer du col utérin (I, 68) donna une réaction normalement positive. Il en fut de même, contrairement aux résultats de Dietel, rappelons-le, chez une femme pré-éclamptique (I, 121). L'association d'une grossesse et d'une crise d'asystolie (I, 130, 131, 132) n'influence pas davantage le résultat.

L'observation de Mme Dur... est plus complexe. Il s'agit d'une femme qui eut ses dernières règles en septembre 1946. En novembre, et alors qu'elle se croyait enceinte, elle reçoit un coup de pied de vache dans l'abdomen. L'utérus ne grossit pas, l'avortement ne se produit pas. En janvier 1947, soit deux mois après le traumatisme, la malade entre à l'Hôpital Boursier car son utérus commençait à augmenter de volume et l'on pensait à une rétention. *Un test mélanophorique pratiqué à cette époque fut négatif* (II, 207). En février une nouvelle réaction est, cette fois, positive (I, 83) mais tardive. En juin, la malade avorte d'un fœtus vivant *de six mois* qui meurt une heure après. La réaction négative du mois de janvier s'explique donc par une trop grande précocité de la grossesse à cette époque.

Ceci nous amène à envisager et à discuter les 13 réactions négatives observées au cours de la gestation.

Nous n'insisterons pas sur un certain nombre d'entre elles qui ne constituent pas des erreurs. Il est en effet normal qu'une

femme *accouchée depuis huit jours* (I, 143) ait des urines inactives sur les mélanophores car, à ce moment-là, il n'y a plus grossesse. L'excrétion urinaire de l'intermédine ne cesse cependant pas brutalement après l'accouchement. L'Epée, pratiquant quotidiennement la réaction chez une accouchée, a constaté qu'elle restait positive jusqu'au 7e jour et qu'elle s'annulait au 8e. Nous n'avons pas répété cette expérience, mais nous avons enregistré un test positif au 3e jour du post partum (I, 141) ainsi qu'à deux reprises pendant le travail (I, 142 et 144).

Nous ne considérons pas non plus comme une erreur la réaction négative obtenue chez une femme enceinte *à son 3e jour de retard de règles*. Le test des mélanophores n'a pas une telle précocité. Il s'en faut de peu d'ailleurs puisque les urines de la même femme se révèlent mélanophoro-dilatatrices quatre jours plus tard, soit au 7e jour de retard des règles (I, 17 et 18). La réaction de Friedmann, dans ce cas, fut positive au 7e jour.

Nous avons également obtenu une réaction positive *au 6e jour de retard des règles* (I, 19) chez une femme dont la grossesse fut confirmée par la suite.

Notre but étant de fixer très exactement les conditions d'utilisation optimum du test de la grenouille, nous avons étudié l'influence de la concentration urinaire sur la réactivité pigmentaire de l'animal. Cela nous a valu 6 résultats négatifs. Mais, par contre, ces échecs démontrent la nécessité de certaines précautions dans le prélèvement des urines et l'utilité, dans certains cas, de la concentration chimique que nous exposerons plus loin.

— 1) Dans l'expérience n° 20, il s'agit d'une femme, confirmée enceinte ultérieurement, dont les urines ont été expérimentées au 18e jour de retard de règle, donc dans les délais de positivité du test. La réaction de la lapine avait été très faiblement positive (1 seul follicule hémorragique sur un seul ovaire). Le test des mélanophores est resté négatif. Nous avons recommencé l'expérience dans les mêmes conditions, le résultat fut identique (I,21). Nous avons alors mesuré la densité des urines et *nous l'avons trouvée égale à 1008*. N'ayant pas pu prélever d'autres urines chez cette femme, nous en sommes resté là.

— 2) Mme R., dont la grossesse fut également confirmée,

donne une première fois, dans les conditions habituelles d'injection, une réaction positive normale (38). Nous injectons alors à l'animal une dose plus faible des mêmes urines ; le test reste positif mais son intensité diminue. Dans un deuxième temps, nous faisons boire au sujet un grand verre de bière deux heures avant un nouveau prélèvement. Les urines ainsi obtenues, injectées à raison du 1/10 du poids de la grenouille, donnent une réaction négative (40) ; nous augmentons la dose injectée à un autre animal (le 1/8 du poids) *et la réaction devient positive* (41). — Six jours après nous répétons l'expérience 40, le résultat est à nouveau négatif (43).

— 3) Chez une autre femme enceinte, nous prélevons les urines à deux heures de l'après-midi, le test est négatif (79). Nous injectons les mêmes urines en quantité plus forte, la réaction est positive (80). Nous prenons alors les premières urines du matin, elles sont actives à la dose standard (81).

— 4) Chez une quatrième femme, un prélèvement fait sans précautions n'a aucun effet mélanophoro-dilatateur (84) et les premières urines du matin sont positives (85).

Nous n'avons pas poussé plus loin, notre conviction est faite : chez la grenouille, comme chez la lapine, *il faut utiliser les urines de la première miction du matin après avoir recommandé au sujet de boire peu la veille au soir.*

Le cas n° 29, négatif lui aussi, n'est pas non plus une erreur. La malade était en menace d'avortement et un curettage pratiqué huit jours après l'expérience ramena *un œuf mort et altéré.* Nous avons déjà vu ce que l'on peut penser au sujet de l'excrétion de l'hormone mélanotrope en cas de mort in utero du produit de conception. Ici la mort de l'œuf au moment de l'expérience n'est pas prouvée mais elle est quand même très probable.

Les expériences 47 et 48 nous ont donné un test négatif avec les urines d'une femme de 42 ans, ayant un retard de règles de 3 mois et dont l'utérus était demeuré petit. *Trois mois après l'expérience,* nous avions la confirmation d'une grossesse clinique de *4 mois.* Deux hypothèses peuvent expliquer cet échec : grossesse trop jeune ou urine trop diluée. Nous sommes dans l'impossibilité de conclure faute de précisions.

Il nous reste maintenant les deux cas les plus ambigus de réactions négatives.

Dans l'expérience 34, le sujet a présenté une amenorrhée *sans signes cliniques de grossesse*. La réaction de Friedmann fut douteuse (un follicule sur un ovaire ?) et le test des mélanophores négatif. Il s'agissait d'urines provenant d'un lieu éloigné ; nous n'avons pas connu l'intéressée et le laboratoire qui pratiqua la réaction sur la lapine ne put nous donner confirmation ni dans un sens ni dans l'autre. Qui s'est trompé ? Nous ne pouvons le dire.

La même chose nous est arrivée avec les urines de Mme Verd. (82). Elle présentait un retard de règle de un mois et à son sujet le diagnostic clinique hésitait entre une fibrome ou une grossesse. La réaction de Friedmann se montra positive, celle des mélanophores négative. Aucune confirmation ne nous fut donnée.

Voici nos 13 cas négatifs énumérés. Trois d'entre eux seulement sont douteux, sans qu'on puisse cependant affirmer qu'ils constituent une erreur certaine car la réaction de Friedmann n'est pas exempte de défaillances. C'est pourquoi nous avons la conviction qu'*avec des urines convenablement prélevées ou concentrées, le test des mélanophores donne 99 % sinon 100 % de résultats positifs dans la grossesse normale.*

Courbe d'excrétion de l'hormone mélanotrope durant la grossesse

Nous avons calculé la moyenne des index mélanophoriques pour chacun des mois de la grossesse en tenant compte du délai de lecture. Les chiffres obtenus ont été les suivants :

	Après 30 min.	*Après 1 heure*	*Après 1 h. 30*
1er mois	1,55 (17 cas)	1,96 (17 cas)	2,20 (16 cas)
2e mois	1,52 (29 cas)	1,90 (30 cas)	2,06 (27 cas)
3e mois	1,38 (16 cas)	1,80 (16 cas)	2,02 (15 cas)
4e mois	1,70 (14 cas)	2 (13 cas)	2,31 (12 cas)
5e mois	1,43 (12 cas)	1,80 (12 cas)	2,01 (12 cas)
6e mois	1,33 (10 cas)	1,72 (10 cas)	1,93 (9 cas)
7e mois	1,36 (8 cas)	1,69 (8 cas)	1,91 (8 cas)
8e mois	1,32 (8 cas)	1,72 (8 cas)	2 (8 cas)
9e mois	1,66 (14 cas)	2,12 (14 cas)	2,37 (12 cas)

Ces résultats, rapportés dans la courbe de la fig. 9, montrent de façon évidente :

1 — Que les courbes correspondant à chaque temps de lecture ont une forme très voisine, ce qui démontre la précision et la fidélité du système de numération utilisé.

2 — Que l'excrétion hormonale est maximum au 4e mois et au terme de la grossesse ; qu'elle est minimum au 3e mois et pendant la période qui s'écoule entre le 5e et le 8e mois.

3 — Que cette excrétion est considérable tout au début de la gestation et que cela facilite grandement le diagnostic précoce qui est, en somme, le plus important.

4 — Que les maxima d'excrétion des 4e et 9e mois coïncident avec les périodes où l'utérus a le plus tendance à se mettre en travail.

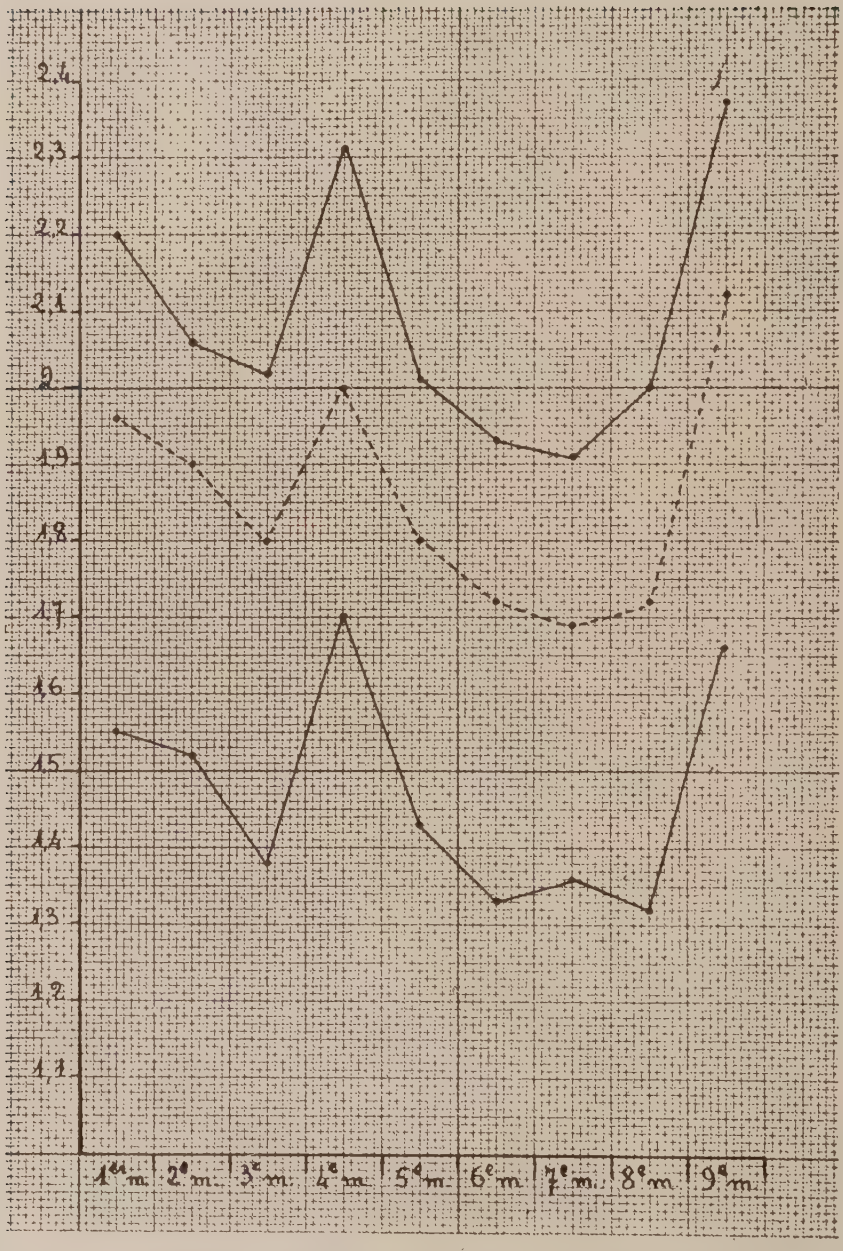

Fig. 9. — Excrétion de l'hormone mélanotrope pendant la grossesse.
Courbe inférieure : après 30 minutes
— moyenne : après 1 heure
— supérieure : après 1 h. 30

II. – RESULTATS EN DEHORS de la GROSSESSE

La positivité du test des mélanophores dans la grossesse ne suffit pas pour affirmer sa valeur ; il faut aussi démontrer sa spécificité, c'est-à-dire sa négativité en dehors de la grossesse. ce fut là notre but dans les expériences qui font l'objet du tableau II.

Sur 66 réactions pratiquées sur des urines de femmes enceintes ou d'hommes normaux, 13 furent positives.

Les urines provenant d'un cas de *môle hydatiforme* se montrèrent fortement mélanophoro-dilatatrices à quatre reprises : deux fois avant l'évacuation (147 et 148), deux fois, trois jours après l'évacuation (149, 150). — Douze jours après l'évacuation, le même cas nous donna une réaction négative (151) ; nous n'avons fait figurer dans nos résultats l'expérience 151 *bis* qu'à titre d'exemple concret des erreurs que peut provoquer la dilatation préagonique. D'ailleurs un autre cas de môle, évacuée depuis 15 jours (145) et depuis un mois et demi (146), donna également des réactions négatives.

Dans l'expérience 153, les urines d'une femme antérieurement hystérectomisée pour un *chorio-épithélioma* et atteinte de métastases pulmonaires, se montrèrent mélanophoro-dilatatrices *mais l'animal était incomplètement hypophysectomisé.* La réaction, refaite sur un animal convenable avec les mêmes urines, resta négative. Un autre cas de chorio-épithélioma, confirmé par l'exitus 2 mois après l'expérience, donna le même résultat (154).

Les urines provenant d'un cas de *cysto-épithélioma de l'ovaire* (154, 155), d'un cas de *kyste de l'ovaire* (167, 168), d'un cas de *virilisme spontané* chez une femme jeune (170), de plusieurs cas d'*annexcite* (160 à 166), d'*aménorrhées simples* confirmées (171 à 180) et d'*hémorragies utérines* (181 à 184) se montrèrent inactives sur les mélanophores de la grenouille hypophysectomisée.

Les expériences 157 à 159 démontrent de façon évidente que la mort in utero du produit de conception s'accompagne d'un arrêt de l'excrétion de l'hormone mélanotrope.

Le test des mélanophores fut constamment positif dans *l'allaitement complet* (185 à 191). *Il fut par contre négatif dans un cas d'allaitement mixte* avec deux tétées quotidiennes au sein de 70 gr. chacune. Dans le cas de Mme R. le test devient négatif 15 jours après la cessation de l'allaitement (194).

La positivité de la réaction dans l'allaitement complet ne doit pas surprendre si l'on réfléchit qu'à cette occasion la pituitaire entre en hyperfonctionnement pour sécréter la prolactine. Il n'est donc pas invraisemblable de constater que l'hormone mélanotrope est intéressée par cette hypersécrétion.

Quoiqu'il en soit la constatation d'un pareil phénomène crée une cause d'erreur dont il faudra tenir compte dans le diagnostic de la grossesse survenant pendant l'allaitement. Cette question demande d'ailleurs à être étudiée de plus près.

Les urines de femmes normales au cours des diverses *périodes du cycle menstruel* ont toujours été négatives (193 à 204). Un animal douteux nous a donné une réaction positive dans un cas d'*hypofolliculinie* confirmée (206) mais un animal soigneusement vérifié avant l'injection est resté négatif (205). Enfin, les urines de trois hommes normaux n'ont pas dilaté les mélanophores de la grenouille (208 à 210).

III. – ESSAIS CHIMIQUES

CONCENTRATION DE L'HORMONE MELANOTROPE DANS LES URINES

Nous avons déjà parlé, dans un précédent chapitre, de l'essai de diverses substances chimiques sur les mélanophores de la grenouille entière, totalement hypophysectomisée ou incomplètement hypophysectomisée. Le détail des résultats figure au début du tableau III (211 à 229).

La constatation de certaines réactions négatives ou peu intenses avec des urines prélevées sans précautions nous ont poussé, avec MM. Babin et Moretti, à rechercher un procédé susceptible d'aboutir à la concentration de l'hormone mélanotrope dans les

urines et à une netteté plus grande de la réaction mélanophorique.

Nos premiers essais ont porté sur diverses méthodes déjà préconisées ; nous les résumerons rapidement car ils se sont accompagnés d'échecs plus ou moins complets.

1) Traitement des urines par la soude

Rappelons que la soude a pour effet, selon JORES et d'autres, d'augmenter l'intensité et la durée de l'action mélanophoro-dilatatrice des extraits post-hypophysaires et de l'urine.

A 4cc d'urine, nous avons ajouté 1cc de solution N/10 de soude. Le mélange fut porté à l'ébullition au bain-marie pendant 15 minutes. Un précipité se formait qui était éliminé par filtration ; le filtrat était ensuite injecté à l'animal dans les conditions habituelles (III, 230 à 232).

30 minutes après l'injection, l'amélioration de l'index était la suivante :

Urines normales	*Urines sodiques*
1,35	1,70
1,30	1,50
2,10	2,32

Cela ne nous a pas paru suffisant et nous avons abandonné ce procédé.

2) Extraction par le charbon et l'acétone

Cette technique est dérivée de celle de LANDGREBE et WARING. Nous avons dû supprimer l'emploi du phénol comme éluant car les extraits obtenus étaient très toxiques et tuaient régulièrement l'animal. Nous faisions une absorption sur charbon activé ; le charbon était isolé par centrifugation ; on faisait ensuite une élution à l'eau distillée ; la solution aqueuse était traitée par l'acétone et le précipité ainsi obtenu était asséché sous vide et injecté en solution dans l'eau distillée.

Le résultat se traduisait par un échec total (233).

3) Extraction par l'acétone

On ajoutait à 200cc d'urines 100cc d'acétone. Il se formait un précipité que l'on isolait par décantation et centrifugation. Le culot asséché sous vide puis dissout dans l'eau distillée et injecté à l'animal.

Le premier résultat obtenu par cette méthode fut très satisfaisant (234) malheureusement des essais ultérieurs ne confirmèrent pas ce cas heureux (235 à 237).

4) Extraction par l'acétone et l'alcool

Nous nous sommes alors adressé à la technique employée par Mutch et Mackay (1943) pour la concentration de l'hormone mélanotrope dans le sang.

On prépare un extrait acétonique comme précédemment. La poudre obtenue par assèchement sous vide est additionnée de 5 fois son volume d'alcool absolu et porté à l'ébullition pendant trois minutes au bain-marie. Le mélange est ensuite centrifugé et le culot asséché sous vide puis dissout dans 2cc d'eau distillée chaude et injecté à la grenouille. Les résultats de ce procédé furent un échec partiel (238) et un échec total (239).

5) Nouvelle technique d'absorption

La réussite vint enfin récompenser nos efforts et nous allons maintenant donner la technique que nous avons par ailleurs déjà publiée (Babin, Moretti et Rives, 1947).

Mise en présence d'un adsorbant

Nous sommes partis de 250cc d'urines placées dans un Erlenmayer de 500cc. A quatre échantillons ainsi préparés nous avons ajouté 2 gr. de l'un des adsorbants suivants : carbonate de calcium, magnésie calcinée, alumine, kaolin. Nous avons agité et laissé le mélange obtenu en contact pendant 48 heures, en ayant soin d'agiter à nouveau de temps à autre.

Séparation

Ce laps de temps écoulé nous avons décanté puis centrifugé le dépôt (adsorbant + hormone) et éliminé le liquide surnageant.

Elution a l'alcool absolu

Ce temps a pour but de détacher l'hormone mélanotrope de son adsorbant et de l'obtenir en solution alcoolique. Au culot obtenu lors de la séparation, on ajoute 2^{cc} d'alcool absolu. On agite vigoureusement pendant 5 minutes avec une baguette de verre puis on centrifuge pendant 3 minutes et on recueille le liquide surnageant. On recommence l'élution une ou deux fois avec d'autre alcool de manière à solubiliser la totalité du principe adsorbé.

Evaporation du solvant de l'hormone

Nous y parvenons par évaporation de l'alcool à froid et sous vide.

Un Erlenmayer de 500^{cc} est relié par une tubulure latérale à une trompe à vide ; il sert de garde contre un reflux éventuel de l'eau venant de la trompe. Par un tube passant au travers du bouchon, il est relié à un second Erlenmayer de 50^{cc} dans lequel est placée la solution alcoolique à évaporer et sous lequel on dispose une ampoule électrique assez puissante qui assure un chauffage modéré; la température est contrôlée par un thermomètre passant à travers le bouchon.

L'appareil étant ainsi monté, on fait le vide à son intérieur et on allume l'ampoule. Avec le vide obtenu, la température d'ébullition est de 25° environ. L'évaporation est rapide, on peut même l'accélérer par un chauffage un peu plus intense puisque l'hormone mélanotrope est thermostable. Une partie de l'alcool se condense dans l'Erlenmayer de garde et peut être récupérée.

A la fin de l'opération on obtient un liquide sirupeux et brunâtre qui est repris par 2^{cc} d'eau distillée chaude et injecté à la grenouille.

L'essai sur carbonate de calcium et sur magnésie calcinée nous a donné des résultats négatifs (240 et 241). Par contre avec le kaolin et l'alumine nous avons obtenu en une heure une dilatation à 2,40 alors que les urines non concentrées avaient donné un index égal à 1,48 dans le même temps (242, 243).

Nous avons, par la suite, fait varier la quantité d'urine de départ et le temps de contact pour déterminer le seuil de sensibilité de la méthode. Avec 200^{cc} et 21 heures de contact le résultat est déjà moins satisfaisant (244) ; au-dessous de ces chiffres il devient franchement mauvais quand il n'est pas négatif (245, 246, 247). Les expériences 248 à 252 donnent une idée des index très intéressants que l'on peut obtenir à diverses époques de la grossesse par la concentration au kaolin-alcool, mais *il faut pour cela que l'on parte au moins de 250^{cc} d'urine et que le temps de contact avec l'adsorbant ne soit pas inférieur à 24 heures.*

Les expériences 253 à 258 démontrent que la concentration n'enlève rien à la spécificité de la réaction puisqu'elle reste négative en dehors de la grossesse.

CONCLUSIONS

I. — Au cours d'un rappel historique sur les tests de grossesse, nous avons souligné la notion d'hyperfonctionnement de la glande pituitaire pendant la gestation. Cette hypersécrétion intéresse à la fois les hormones gonadotropes et le principe mélanophoro-dilatateur. — Nous nous sommes ensuite efforcé de résumer les connaissances acquises à ce jour sur la morphologie et la physiologie du complexe hypophyso-pituitaire dont nous avons, en outre, envisagé les corrélations morphologiques et fonctionnelles avec l'hypothalamus.

II. — Le mélanophore est une cellule pigmentaire très spéciale qu'il est difficile d'assimiler aux cellules à mélanine des mammifères. Sa physiologie, dont certains points sont encore en discussion, est assez complexe ; elle présente cependant beaucoup d'analogies avec celle des cellules musculaires lisses.

III. — L'hormone mélanotrope, de découverte récente, est élaborée par la glande pituitaire mais son origine sécrétoire intime reste mal définie. Malgré l'effort de plusieurs chercheurs, on n'est pas encore parvenu à l'isoler à l'état pur ; il n'est donc pas étonnant que l'étude de ses propriétés physiques, et surtout chimiques, demeure fragmentaire. Pour la même raison, on discute toujours sur son individualité et sur son rôle physiologique chez les mammifères. Quelques procédés de titrage ont été proposés, mais aucun n'est entièrement satisfaisant.

L'hormone mélanotrope existe sûrement dans le sang et les urines de femmes enceintes. On l'a dépisté dans d'autres tissus ou humeurs, mais les méthodes employées sont sujettes à de

graves erreurs. — Elle remplit son rôle physiologique chez les batraciens et les poissons en s'intégrant dans un mécanisme réflexe neuro-endocrinien dont nous avons étudié en détails la mise en jeu et le fonctionnement.

IV. — La dilatation des mélanophores est un test spécifique de l'hormone mélanotrope, à condition que le réactif animal employé soit sûr et dépouillé de toute cause d'erreur. Cette condition n'est réalisée que par un animal totalement hypophysectomisé dont les modifications mélanophoriques sont examinées au microscope et, de préférence, objectivées par un index numérique.

V. — La technique d'hypophysectomie que nous avons employée sur *Rana esculenta* est à la fois précise et sûre. Elle permet de procéder à une ablation absolument totale de la pituitaire tout en obtenant des animaux très peu choqués dont la survie et la résistance aux injections assurent à la méthode un rendement pratique très intéressant. L'hypophysectomie et la réalisation du test n'exigent qu'un matériel banal, existant dans tous les laboratoires.

VI. — Les résultats que nous apportons proviennent de 258 expériences dont 144 portent sur des urines de femmes enceintes ou récemment accouchées, 66 sur des urines d'hommes et de femmes non enceintes et 48 sur l'essai de diverses substances chimiques et sur la concentration de l'hormone mélanotrope dans les urines.

Dans le premier groupe, la réaction fut négative 13 fois :

— 1 fois chez une accouchée au 8e jour du post partum.

— 1 fois chez une femme enceinte au 3e jour de son retard de règles.

— 1 fois chez une malade qui avorta peu après d'un œuf mort.

— 6 fois dans des cas où nous avons prouvé que l'urine était très peu concentrée.

— 2 fois dans des cas où la réaction de Friedmann fut faiblement positive (1 seul follicule hémorragique) et où il ne nous a pas été possible d'avoir confirmation dans un sens ou dans l'autre.

— 2 fois chez une femme de 42 ans indubitablement enceinte.

Les 131 autres réactions furent positives.

Il est donc possible de dire qu'à condition d'utiliser les premières urines du matin, la réaction des mélanophores telle que nous la pratiquons *donne 99 % de résultats positifs tout au long de la grossesse, à partir du 7e jour du retard de règles* jusqu'à 5 à 8 jours après l'accouchement.

Les réactions ont été chiffrées. Les moyennes des index mélanophoriques, considérés pour chacun des mois de la grossesse, montrent que l'excrétion de l'hormone mélanotrope est faible pendant les 3e, 6e, 7e et 8e mois, qu'elle est considérable dans les deux premiers mois et maximum au 4e mois ainsi qu'à l'approche du terme.

Sur 66 réactions pratiquées en dehors de la grossesse, nous n'avons obtenu des résultats positifs sûrs que 7 fois chez des femmes allaitant complètement et 1 fois dans un cas de môle hydatiforme vivante ou évacuée depuis peu de jours. Deux animaux douteux nous ont donné une réaction positive avec une urine provenant d'un cas de chorio-épithélioma et une provenant d'un cas d'hypofolliculinie ; mais les mêmes urines, injectées à des grenouilles soigneusement vérifiées et sûres, sont restées inactives.

Le test a toujours été négatif pendant le cycle menstruel, dans un cas de cysto-épithélioma de l'ovaire, deux cas de chorio-épithélioma, un cas de maladie de Cushing et dans un grand nombre de cas d'hémorragies utérines, d'amenorrhées simples, d'annexites, et de fœtus morts in utero. Il en fut de même pour les urines de trois hommes normaux.

L'éther, le chloroforme, le nitrite d'amyle, la progestérone, la folliculine, l'éphédrine et l'adrénaline à faibles doses n'ont aucune action mélanophoro-dilatatrice sur la grenouille complètement hypophysectomisée. L'adrénaline à forte dose et convenablement diluée, les extraits post-hypophysaires et une préparation de prolans urinaires, contenant sans doute de l'hormone mélanotrope, donnent par contre une réaction positive.

La concentration de l'hormone mélanotrope par la technique au kaolin-alcool permet d'obtenir des réactions très intenses et d'éviter l'erreur dans les cas où ce principe est en trop faible quantité dans l'urine. Elle n'influence pas la spécificité du test.

TABLEAU I : GROSSESSES

N° D'ORDRE	pH	Quant. Inject.	AGE DE LA GROSSESSE	OBSERVATIONS	RÉSULTATS 30m	1h	1h30	2h
1	5	1cc 2	1 mois	Mme VU... Grossesse confirmée.	1,50	1,92	2,24	—
2	5	1cc 9	1 mois	Mme CA... *Réact. Friedmann, faiblement positive* (1 follic.). Grossesse confirmée.	1,50	1,85	—	—
3	5,8	1cc 5	1 mois	Mme MEG... *Réact. Friedmann posit.* Gross. confirmée.	1,51	1,68	1,72	—
4	7,4	1cc 6	1 mois	Mme DEV... *Menace d'avortement.* Réact. faible.	1,48	1,52	2,03	—
5	5,8	1cc 6	1 mois	Mme CAR... Gross. confirmée.	1,43	1,78	1,98	—
6	5,8	1cc 2	1 mois	Mme POUJ... *Menace d'avortement.* Réact. forte.	2	2,23	2,17	—
7	5,8	1cc 4	1 mois	Mme JE... Gross. confirmée.	1,55	1,63	1,72	2,15
8	5	1cc 6	20 jours	Mme PIN... *Menace d'avortement.* Réact. normale.	1,47	1,75	2,25	—
9	7,4	1cc	1 mois	Mme LAL... Accouchée il y a 3 mois. Pas de retour de couches. Pas d'allaitement. Gross. confirmée.	1	1,40	1,85	2,32
10	6,2	1cc 2	25 jours	Mme DUL... Retard 10 jours. Gross. confirmée.	1,35	1,65	2,35	—
11	5,5	1cc 5	1 mois	Mme CHA... Retard 17 j. Gross. confirmée par laparotomie.	1,68	1,88	2,20	—
12	8	1cc 5	1 mois	Mme GIL... Retard 13 j. Gross. confirmée.	1,55	2,58	1,94	—
13	8	1cc 5	1 mois	Mme GIL... Retard 13 j. Gross. confirmée. Mêmes urines.	1,53	1,91	2,69	—
14	7,4	2cc 2	1 mois	Mme GIL... Retard 15 j. Gross. confirmée.	1,57	2,47	2,33	—
15	7,4	1cc 5	1 mois	Mme GIL... Retard 15 j. Gross. confirmée. Mêmes urines.	1,63	2,54	2,70	—
16	5,5	3cc 3	18 jours	Mme DUP... Retard 3 j. Pas de signes cliniques.	1	1	1	1
17	5	2cc 1	22 jours	Mme DUP... Retard 7 j. Signes symp. *Réact. Friedmann positive.*	1,70	2,20	2,16	—
18	5	3cc 5	22 jours	Mme DUP... Retard 7 j. Signes symp. *Réact. Friedmann positive.*	1,94	2,46	2,87	—
19	5	1cc 4	20 jours	Mme FEY... Retard 6 j. Gross. confirmée.	1,80	2,12	2,90	—
20	5,5	1cc 4	1 mois	Mme BES... Retard 18 j. *Réact. Friedmann faiblnt posit.* (1 follic.). Prélèvnt sans précautions. Gross. conf.	1	1	1	1
21	4,5	1cc 7	1 mois	Mme BES... Mêmes urines que ci-dessus. Densité : 1.008.	1	1	1	1
22	7	1cc	1 mois 1/2	Mme BON... *Réact. Friedmann positive.* Gross. confirmée.	1,80	2,12	2,45	—
23	7	1cc	1 mois 1/2	Mme BON... *Réact. Friedmann positive.* Gross. confirmée. Mêmes urines.	1,40	1,88	2,17	—
24	5,5	0cc 8	1 mois 1/2	Mme WEL... Gross. confirmée.	1,30	1,56	1,60	1,95
25	7,5	1cc 5	2 mois	Mme GUI... Aménorrhée, uterus gros. Gross. confirmée.	1,48	1,65	1,84	—
26	5,5	1cc 5	1 mois 1/2	Mme GE... Gross. confirmée.	1,63	1,94	2,12	—
27	4,5	1cc 4	2 mois	Mme PEY... *Menace d'avortement.*	1,97	2,41	2,97	—
28	7,4	1cc 2	2 mois	Mme PEY... *Menace d'avortement.* Curettage 9 j. après, œuf mort.	1,23	1,48	1,81	2,06
29	6,2	1cc 2	2 mois	Mme PEY... *Menace d'avortement.* Curettage 8 j. après, œuf mort.	1	1	1	1
30	6,2	1cc 2	2 mois	Mme PER... Annexite, gros uterus. Gross. confirmée.	1,30	1,41	1,67	1,96
31	6	1cc 2	1 mois 1/2	Mme MEN... *Avortement en cours.* Débris placentaires éliminés.	1,84	2,35	2,35	—
32	5,8	1cc 4	———	Mme MEN... *Avortée depuis 1 jour.* Cf. N° 31.	1,34	1,61	1,84	1,80

34	5,5	1cc 2	1 mois 1/2 ?	Mme BAR... Aménorrhée. Pas de signes cliniques. Réact. *Friedmann faiblement posit.* (1 follicule). Malade perdue de vue.	**1**	**1**	**1**	**1**
35	5,5	1cc 3	1 mois 1/2	Mme GOM... Gross. confirmée.	1,80	2,25	2,83	3,40
36	7,4	1cc 1	1 mois 1/2	Mme LAB... Gross. confirmée.	1	1,80	2,40	—
37	5,8	1cc 3	1 mois 8 j.	Mme R... Retard 25 jours. Gross. confirmée. Date de conception connue.	1,78	2,53	—	—
38	5,5	1cc 6	1 mois 10 j.	Mme R... Gross. confirmée.	1,58	2,49	—	—
39	5,5	0cc 8	1 mois 10 j.	Mme R... Gross. confirmée. Mêmes urines. Injection de moins du 1/10 du poids de l'animal.	1,44	1,73	1,22	1
40	6	1cc	1 mois 12 j.	Mme R... Gross. confirmée. *Boissons abondantes.*	**1**	**1**	**1**	**1**
41	6	1cc 5	1 mois 12 j.	Mme R... Gross. confirmée. *Boissons abondantes.* Mêmes urines. Inject. d'une quantité plus forte.	1	1,44	1,98	—
42	7,4	1cc 4	2 mois	Mme AND... Appendicite. Gross. confirmée. Réact. tardive.	1	1	1,45	1,92
43	5,5	1cc 5	1 mois 18 j.	Mme R... *Boissons abondantes.* (Cf. Nos 40 et 41).	**1**	**1**	**1**	**1**
44	5,5	1cc 6	1 mois 22 j.	Mme R... Gross. confirmée. (Cf. Nos 37, 38, 39, 41).	1,64	1,81	2,10	—
45	6,2	1cc 4	2 mois	Mme R... Gross. confirmée. (Cf. Nos 37, 38, 39, 41).	1,45	1,87	2,50	—
46	5,8	1cc 2	1 mois 1/2	Mme CHA... (Cf. N° 11). Grossesse confirmée par laparotomie pour fibrome.	—	1,30	1,71	2
47	6,5	1cc 5	1 mois 1/2 ?	Mme DEL..., *42 ans.* Retard 3 mois, utérus petit (ménopause ?) ; 3 mois après, gross. clin. d'environ 4 m.	—	—	**1**	**1**
48	7	1cc 6	1 mois 1/2 ?	Mme DEL..., *42 ans*... Mêmes urines que dans N° 46.	**1**	**1**	**1**	**1**
49	5,5	1cc 5	1 mois 10 j.	Mme CHA... Gross. confirmée par laparotomie 15 jours auparavant. (Cf. N° 11).	1,78	2	2,31	—
50	5,8	1cc	1 mois 7 j.	Mme PASS... Grossesse confirmée.	1,20	1,43	1,74	—
51	4,5	1cc	1 mois 7 j.	Mme PASS... Mêmes urines que dans N° 50. Injection d'une quantité plus forte.	1,43	2,66	1,27	—
52	6,2	2cc 4	1 mois 10 j.	Mme PASS... Grossesse confirmée. (Cf. Nos 50 et 51).	1,42	1,68	1,85	—
53	7,4	1cc 5	1 mois 1/2	Mme Y. P... Grossesse confirmée.	2,30	1,80	—	—
54	7,4	1cc 6	1 mois 1/2	Mme Y. P... Mêmes urines que dans le N° 53.	1,20	1,63	1,90	—
55	7,4	1cc 5	1 mois 1/2	Mme Y. P... Mêmes urines que dans le N° 53.	2	1,85	1,60	—
56	7,4	1cc	2 mois	Mme BERN... *Menace d'avortement.* Avortement le lendemain de l'expérience. Gross. confirmée.	1,50	1,94	2,22	—
57	5	3cc 4	2 mois	Mme BERG... Urines prélevées 1 h. après laparotomie pour fibrome, ayant révélé la grossesse. *Réact. de Friedmann négative.*	2,27	3,26	3,32	—
58	———	1cc 5	3 mois	Mme OB... Grossesse confirmée.	1	1,86	2	—
59	———	2cc	2 mois 1/2	Mme POS... Gross. confirmée.	1,66	1,82	1,94	—
60	———	1cc 4	3 mois	Mme PES... Gross. confirmée.	2,10	2,35	2,73	—
61	———	1cc 2	3 mois	Mme COM... Gross. confirmée.	1,72	1,90	2,08	—
62	5	1cc 2	2 mois 1/2	Mme SAI... Gross. confirmée.	1,92	2,47	2,66	—
63	5	1cc 5	2 mois 1/2	Mme SAI... Mêmes urines que dans le N° 62.	1,84	2,53	2,72	2,95
64	5,5	0cc 8	3 mois	Mme AT... Gross. confirmée.	1,46	1,80	2,19	—
65	———	0cc 8	3 mois	Mme PO... Gross. confirmée. Réact. tardive.	1	1,45	1,56	1,87
66	8	1cc 7	2 mois 1/2	Mme POUI... Gross. confirmée.	1	1,88	2,06	—
67	6,2	1cc 5	2 mois 1/2	Mme COR... Gross. confirmée. Réact. tardive.	1	1,36	1,66	2,12
68	7,4	1cc 2	2 mois 1/2	Mme PUC... *Cancer du col.* Grossesse confirmée.	1	1	2,02	2,64
69	6,2	1cc 2	3 mois	Mme MOU... Grossesse confirmée.	1,40	1,65	1,91	—
70	7,4	1cc 3	3 mois	Mme JOA... *Menace d'avortement.* La malade avorte le lendemain de l'expérience. Réact. tardive.	1	1,25	1,76	2,30
71	5,8	1cc 5	2 mois 10 j.	Mme J. H... Gross. confirmée.	1,22	1,57	1,85	2,12

TABLEAU I : GROSSESSES (SUITE ET FIN)

N° D'ORDRE	p^h	Quant. Inject.	AGE DE LA GROSSESSE	OBSERVATIONS	RÉSULTATS 30m	1h	1h30	2h
72	7,4	2cc 4	2 mois 7 j.	Mme R... Date de conception connue. Gross. confirmée. (Cf. Nos 37 à 41, 43 à 45).	1,77	1,96	1,21	—
73	5	1cc 5	2 mois 1/2	Mme R... Date de conception connue. Gross. confirmée.	1	1,92	—	—
74	—	1cc 3	4 mois	Mme Bo..., Gross. confirmée.	1,65	1,71	1,85	—
75	7	1cc 2	4 mois	Mme Dor... Gross. confirmée.	2,27	—	—	—
76	7,4	1cc 2	4 mois	Mme Te... Gross. confirmée. *Réact. de Friedmann positive.*	1,92	2,25	—	—
77	5,5	1cc 5	3 mois 1/2	Mme As... Gross. confirmée. *Réact. de Friedmann très positive.*	1,83	2,47	2,93	—
78	5,8	1cc 5	3 mois 1/2	Mme Lur... Gross. confirmée.	1,62	1,78	2,04	—
79	7,4	0cc 8	4 mois	Mme M... *Menace d'avortement.* Urines prélevées dans la journée, peu concentrées. (Cf. Nos 80 et 81).	1	1	1	1
80	7,4	1cc 6	4 mois	Mme M... Mêmes urines que dans le N° 79. Injection d'une quantité plus forte.	1,31	1,52	1,74	2,12
81	6,2	1cc 2	4 mois	Mme M... *Menace d'avortement.* Prélèvement des premières urines du matin. (Cf. Nos 79 et 80).	1,30	1,60	1,76	2
82	7,4	1cc 3	———	Mme Verd... Retard 1 mois. *Grossesse ou fibrome ? Réact. de Friedmann positive.* Malade perdue de vue, confirmation impossible.	1	1	1	1
83	7	1cc 2	2 ou 4 m. ?	Mme Dur... Amenorrhée depuis 4 mois. *Traumatisme abdominal* il y a 3 mois (nov.) ; 4 mois après l'expérience (juin) la malade avorte d'un fœtus mort, de 6 mois. (Cf. Table II, N° 207).	1	1,22	1,45	1,92
84	6,2	1cc 2	4 mois	Mme Serv... Utérus gros, *urines peu concentrées.* Gross. confirmée. Pas de lecture après 1 h. 30. (Cf. N° 85).	1	1	1	—
85	5,5	1cc 4	4 mois	Mme Serv... *Premières urines du matin.* Injection d'une quantité plus forte par rapport au poids de l'animal (10 gr.). Gross. confirmée. (Cf. N° 84).	1,64	1,84	2,05	—
86	4,5	1cc 2	3 mois 1/2	Mme. Zud... *Menace d'avortement.* Gross. confirmée.	1,96	2,34	2,75	—
87	6,2	2cc 2	4 mois	Mme Ger... *Menace d'avortement.* 4 jours après l'expérience, un curettage ramène du placenta.	1,94	2,30	2,75	—
88	5,5	1cc 4	3 mois 8 j.	Mme G. L... Gross. confirmée.	1,71	2,08	2,43	2,15
89	5	2cc	4 mois	Mme T... Gross. confirmée.	2,01	2,82	3,51	—
90	5,5	2cc	3 mois 1/2	Mme Camp... Gross. confirmée.	1,75	2,18	2,52	—
91	———	1cc 4	5 mois	Mme Na... Gross. confirmée.	1,89	2,25	1,74	—
92	———	1cc 3	5 mois	Mme X... Amenorrhée depuis 1 an. Grossesse clinique. *Réaction de Friedmann négative; Réact. de Brouha négative.* Radiographie montre un fœtus.	1,70	1,92	2,11	—
93	7	1cc	4 mois 1/2	Mme Def... Gross. confirmée.	1,50	1,84	2,20	—
94	5,5	1cc 5	5 mois	Mme Ro... Gross. confirmée au cours d'une appendicectomie. Urines prélevées 3 jours après l'opération.	2,04	2,27	1,83	—

96	6,2	1cc 5	5 mois	Mme Bob... *Menace d'avortement.* (Cf. N° 95).	1	1,48	1,84	—
97	5	1cc 4	4 mois 1/2	Mme Is... Gross. confirmée.	1,50	2,01	2,61	—
98	5,5	1cc 2	4 mois 1/2	Mme Kai... Gross. confirmée. *Réact. de Friedmann posit.*	1,69	1,88	2,27	—
99	5,8	1cc 2	4 mois 8 j.	Mme Cal... Gross. confirmée. Réact. tardive.	1	1,30	1,41	1,89
100	5,8	1cc 2	4 mois 1/2	Mme Soul... Gross. confirmée. *Réact. de Friedmann posit.*	1,90	2,45	3,06	—
101	5,8	1cc 4	4 mois 10 j.	Mme Gut... *Menace d'avortement.* Gross. confirmée.	1	1,21	1,45	2,11
102	7	1cc	4 mois 1/2	Mme Drau... Gross. confirmée.	1	1,67	2,05	—
103	5,5	1cc 2	5 mois 1/2	Mme Fe... Gross. confirmée.	1,50	1,92	2,07	—
104	8	1cc 2	6 mois	Mme Mor... Gross. confirmée.	1	1,33	1,70	2,17
105	7,4	1cc	6 mois	Mme Ga... Gross. confirmée.	1,40	2,19	—	—
106	6	2cc 2	5 mois 20 j.	Mme Donn... Gross. confirmée.	1,33	1,58	1,86	2,19
107	7	1cc 5	5 mois 1/2	Mme Mas... Gross. confirmée.	1,35	1,70	1,94	—
108	6,2	1cc	5 mois 1/2	Mme Sad... Gross. confirmée.	1,42	1,75	2,10	2,51
109	5,8	1cc 2	5 mois 10 j.	Mme Pi... Gross. confirmée.	1,52	1,91	2,03	—
110	5,5	1cc 2	5 mois 1/2	Mme Am... Gross. confirmée.	1,47	1,72	2	—
111	6,2	1cc 3	6 mois	Mme Noi... Gross. confirmée.	1	1,50	1,83	—
112	6	1cc 7	6 mois	Mme Va... Gross. confirmée.	1,28	1,58	1,90	—
113	———	1cc	6 mois 1/2	Mme Rig... Gross. confirmée.	1,62	1,75	1,96	—
114	6,5	0cc 8	6 mois 1/2	Mme Gr... Gross. confirmée.	1,20	1,60	1,95	—
115	5,5	1cc 8	6 mois 1/2	Mme Ten... Gross. confirmée.	1,53	1,66	1,80	—
116	———	1cc 8	7 mois	Mme Lab... Gross. confirmée.	1,58	1,70	1,97	—
117	5,8	2cc 2	6 mois 1/2	Mme L. H... Gross. confirmée.	1,37	1,58	1,59	1,77
118	5,5	1cc 6	7 mois	Mme Res... Gross. confirmée.	1,30	1,65	1,92	—
119	7,4	1cc	7 mois	Mme L... Gross. confirmée.	1	1,79	2,10	—
120	7,4	2cc	6 mois 25 j.	Mme Lur... Gross. confirmée.	1,30	1,77	2,02	—
121	———	1cc	8 mois	Mme Jac... *Etat prééclamptique :* albuminurie, hypertension, troubles visuels. Diurèse : 75cc.	1,75	2,12	2,63	—
122	6,5	1cc 3	7 mois 1/2	Mme Bern...	1,53	1,65	2	—
123	7	1cc 5	7 mois 1/2	Mme Mar...	1,33	1,85	2,21	—
124	7	1cc 2	7 mois 1/2	Mme Mar... Mêmes urines que dans 123.	1,35	1,84	1,91	—
125	6	2cc 2	8 mois	Mme Bern...	1,23	1,66	1,89	—
126	5,5	1cc 6	8 mois	Mme Cl...	1	1,52	1,78	—
127	5	1cc 3	8 mois	Mme S. T...	1	1,46	1,76	—
128	———	1cc 2	8 mois	Mme Dep...	1,40	1,68	1,84	—
129	6,2	1cc	9 mois	Mme Dan...	1,45	1,85	2,15	—
130	———	2cc	9 mois	Mme Fil... *Crise d'asystolie.* Diurèse : 800cc (Ur. très conc.)	2,30	2,87	—	—
131	6,5	2cc	9 mois	Mme Fil... Mêmes urines que dans 130.	2,90	3,24	—	—
132	7	2cc	9 mois	Mme Fil... *Crise d'asystolie améliorée par traitement.* Diurèse : 1.700cc (Ur. diluées) (Cf. Nos 130 et 131).	1,65	1,89	2,28	—
133	5,8	1cc 8	9 mois	Mme Gal...	1,51	2,07	2,32	—
134	6,5	1cc 3	8 mois 1/2	Mme Vid...	1,83	2,76	3,15	—
135	6,5	1cc 3	8 mois 1/2	Mme Vid... Mêmes urines que dans 134.	1,81	2,70	3,19	—
136	5,5	1cc	8 mois 1/2	Mme Ju...	1,80	2,21	2,86	4
137	5,5	1cc 6	9 mois	Mme Per...	1	1,30	1,54	1,86
138	7	1cc 2	8 mois 1/2	Mme Pro...	1,35	1,82	1,98	—
139	4,5	1cc 4	9 mois	Mme Fran... *Grossesse prolongée.*	1,48	1,87	2,46	—
140	5,5	1cc	9 mois	Mme B... Réaction fugace.	1,67	1,71	1,38	1
141	5,5	1cc 3	———	Mme Hul... 3 *jours après accouchnt prématuré* (7 m. 1/2).	1,70	1,92	2,25	—
142	6,2	1cc 9	———	Mme Brou... *Femme à terme en travail.*	1,50	2,17	3,53	—
143	7,5	1cc 5	———	Mme C. C... 8 *jours après accouchement à terme.*	1	1	1	1
144	5	1cc 4	———	Mme D. M... *Femme à terme en travail.*	1	1,30	1,67	1,85

TABLEAU II : URINES NON GRAVIDIQUES

N° D'ORDRE	pH	Quant. Inject.	DIAGNOSTIC	OBSERVATIONS	RÉSULTATS 30m	1h	1h30	2h
145	7	1cc 2	Môle hydatiforme	Mme CAUT... *Môle évacuée 15 jours avant* l'expérience.	1	1	1	1
146	5,8	1cc 6	Môle hydatiforme	Mme CAUT... *Môle évacuée 1 mois 1/2 avant* l'expérience, l'utérus reste gros. (Cf. N° 145).	1	1	1	1
147	5,5	1cc	Môle hydatiforme	Mme DUF... Gros utérus, retard de règles 5 mois, pertes sanguines, évacuation d'une vésicule, auscultation négative. *Réaction de Friedmann très positive* (2.000 unités-prolan).	2,96	3,96	—	—
148	8	1cc 8	Môle hydatiforme	Mme DUF... Même observation que dans le N° 147.	1,78	2,14	3,35	—
149	5	1cc 6	Môle hydatiforme	Mme DUF... Urines prélevées 3 *jours après l'évacuation*. Même cas que dans les Nos 147 et 148.	1,56	1,98	2,70	—
150	5	1cc 4	Môle hydatiforme	Mme DUF... Mêmes urines que dans le N° 149.	1,27	1,87	2,75	—
151	5	2cc 2	Môle hydatiforme	Mme DUF... *Môle évacuée depuis 12 jours*. Même cas que dans les Nos 147 à 150.	1	1	1	1
151 bis				— *Dilatation préagonique de la grenouille* (mort 50 minutes après l'injection).	2,09	mort	mort	mort
152	6,2	1cc 4	Chorio-épithéliome	Mme ARRO... Hystérectomie il y a 1 mois pour chorio-épithélioma. *Métastases pulmonaires*.	1	1	1	1
153	5	1cc 4	Chorio-épithéliome	Mme ARRO... Mêmes urines que dans le N° 152. Animal douteux (I.M = 1,37 avant l'injection).	1,64	2,24	1,80	1
154	———	1cc 2	Chorio-épithéliome	Mme X..., 49 ans, castrée par les rayons X. Tumeur placentaire. La malade meurt 2 mois après de chorio-épithéliome confirmé.	1	1	1	—
155	5,5	1cc 5	Cysto-épith. ovar.	Mme PUERT..., 60 ans, ménopausée. Tumeur ovarienne = cysto-épithélioma.	1	1	1	1
156	5,5	2cc	Cysto-épith. ovar.	Mme PUERT... Mêmes urines que dans le N° 155.	1	1	1	1
157	6,2	1cc 6	Fœtus mort in utero	Mme Y... Grossesse de 7 mois. Ne sent plus remuer depuis 8 jours ; auscultation négative depuis 8 jours.	1	1	1	—
158	6,2	1cc 6	Fœtus mort in utero	Mme Y... Mêmes urines que ci-dessus (N° 157).	1	1	1	1
159	4,5	1cc 5	Fœtus mort in utero	Mme MAI... Accouchée la veille d'un enfant mort et macéré.	1	1	1	1
160	———	1cc 2	Annexite	Mme FI... Douglas tombé, très douloureux. Pertes sang. Annexite confirmée.	1	1	1	—
161	———	1cc 3	Annexite	Mme FI... Mêmes urines que dans le N° 160.	1	1	1	1
162	7,4	1cc 1	Annexite	Mme FAR... Retard de règles de 10 jours. Pertes sanguines, Masse annexielle. *Réact. de Friedmann négative*.	1	1	—	1
163	6	1cc 3	Annexite	Mme GOB... Retard de règles de 15 jours. Signes d'annexite, col mou. Absence de grossesse confirmée par la suite.	1	1	1	1
164	7,4	1cc	Annexite	Mme MER... Signes d'annexite, pertes sanguines, retard de règles de 3 jours. Pas de grossesse ultérieure.	1	1	1	—
165	6,8	2cc 2	Annexite	Mme TIL... Retard de règles de 4 mois. Pertes sanguines.				

				Règles 9 j. avant l'expérience. Auscultation négative.	1	1	1	1
168	5,8	1cc 4	Kyste de l'ovaire	Mlle GA... Même cas que dans le N° 167.	1	1	1	1
169	5	0cc 8	Fibrome	Mme V... Utérus gros, pertes sanguines. Fibrome confirmé par la suite.	1	1	1	1
170	5,5	0cc 8	Virilisme	Mme RO... Virilisme spontané chez une femme jeune. Origine surrénale non démontrée.	1	1	1	—
171	5,5	1cc 2	Aménorrhée	Mme SE... Retard 1 mois. *Réact. de Friedmann négative. négative.* Pas de grossesse ultérieure.	1	1	1	1
172	7,4	1cc 7	Aménorrhée	Mme DUV... Retard 2 mois. Pas de grossesse clinique. Confirmé par la suite.	1	1	1	1
173	7,4	1cc 5	Aménorrhée	Mme DUV... Mêmes urines que dans le N° 172.	1	1	1	1
174	8	1cc 6	Aménorrhée	Mme CAI... Retard 20 jours. Pas de grossesse ultérieure (retour des règles).	1	1	1	1
175	8	1cc 6	Aménorrhée	Mme CAI... Mêmes urines que dans le N° 174.	1	1	1	1
176	8	1cc 3	Aménorrhée	Mme LAG... Retard 9 jours. Retour des règles le lendemain.	1	1	1	1
177	6	1cc 2	Aménorrhée	Mme J. A... Retard 17 jours. Apparition ultérieure des règles.	1	1	1	1
178	6,2	1cc 6	Aménorrhée	Mme NOR... Retard 6 jours. Apparition ultérieure des règles. (Cf. N° 180).	1	1	—	—
179	5,5	1cc 6	Aménorrhée	Mme BENZ... Aménorrhe depuis 6 mois. Pas de grossesse clinique.	1	1	1	—
180	5	1cc 5	Aménorrhée	Mme NOR... Retard 14 jours. Apparition ultérieure des règles. (Cf. N° 178).	1	1	1	1
181	6,2	1cc 7	Hémorr. utérine	Mme HU... Pertes sanguines après aménorrhée de 1 mois. Avortement non confirmé.	1	1	1	1
182	6,2	1cc 5	Hémorr. utérine	Mme HU... Mêmes urines que dans le N° 181.	1	1	1	1
183	7	1cc 7	Hémorr. utérine	Mme LACH... Ménorragie chez une avortée récente. Le curettage ramène des débris placentaires.	1	1	1	1
184	5	1cc 5	Hémorr. utérine	Mme LAUR... Pertes de sang depuis 1 mois ; pas de retard de règles. Utérus gros.	1	1	1	1
185	5,8	1cc 5	Allaitement compl.	Mme R... 14e jour du cycle menstruel.	1,89	2,13	—	—
186	5,8	2cc 2	Allaitement compl.	Mme R... Mêmes urines que dans le N° 185.	1	1,87	2,11	—
187	6,2	1cc 7	Allaitement compl.	Mme R... 20e jour du cycle menstruel.	1,40	1,62	2	—
188	5	1cc 4	Allaitement compl.	Mme R... 14e jour du cycle menstruel.	1,40	1,64	2,03	—
189	5,8	1cc 5	Allaitement compl.	Mme L. D... Pas de retour de couches.	1,67	1,91	—	—
190	5	1cc 2	Allaitement compl.	Mme R... 29e jour du cycle menstruel.	1,60	1,90	2,37	2,56
191	6	1cc 5	Allaitement compl.	Mme BON... Pas de retour de couches.	1,38	2,87	1,25	—
192	5	1cc 2	Allaitement *mixte*	Mme CHAM... *Hypogalaxie* depuis 3 mois. 2 têtées par jour (140 gr. au total).	1	1	1	1
193	5	1cc 6	Règles (1er jour)	Mme R... *Allaitement cessé depuis 15 jours.* 1er jour des règles. (Cf. 185 à 188 et 190).	1	1	1	1
194	4,5	1cc 3	Règles (3e jour)	Mme R... *Allaitement cessé depuis 15 jours.* 3e jour des règles.	1	1	1	1
195	5,8	1cc 2	Cycle menstruel	Mme R..., 13e jour du cycle.	1	1	1	1
196	5,6	1cc 5	Cycle menstruel	Mme R... 15e jour du cycle.	1	1	1	1
197	6,2	1cc 1	Cycle menstruel	Mme R... 16e jour du cycle.	1	1	1	—
198	5,5	1cc 3	Cycle menstruel	Mme R... 17e jour du cycle.	1	1	1	1
199	4,5	1cc 2	Cycle menstruel	Mme R... 18e jour du cycle.	1	1	1	1
200	5,5	1cc 2	Cycle menstruel	Mme R... 26e jour du cycle.	1	1	1	1
201	7	1cc 5	Cycle menstruel	Mme DOC... 27e jour du cycle.	1	1	1	1

TABLEAU II : URINES NON GRAVIDIQUES (SUITE ET FIN)

N° D'ORDRE	p^h	Quant. Inject.	DIAGNOSTIC	OBSERVATIONS	RÉSULTATS 30m	1h	1 30	2h
202	5	1cc 5	Cycle menstruel	Mme Bab... 22e jour du cycle.	1	1	1	1
				Dilatation préagonique de la grenouille.	2,26	mort	mort	mort
203	7	1cc 2	Cycle menstruel	Mme Mi... 14e jour du cycle.	1	1	1	1
204	5,8	1cc 5	Cycle menstruel	Mme Mi... 26e jour du cycle.	1	1	1	1
205	6	1cc 1	Hypofolliculinie	Mme Mor... Dosage = moins de 50 unités. 14e jour du cycle menstruel.	1	1	1	1
206	5,5	2cc 2	Hypofolliculinie	Mme Mor... Dosage = moins de 50 unités. 8e jour du cycle.				
				Grenouille douteuse (I.M = 1,25 avant injection).	1,55	2,02	2,01	—
207	5,8	1cc 2	Gross. très précoce?	Mme Duv... Dernières règles en sept. Traumatisme en nov. *Expérience faite en janvier.* En fév., réaction positive (cf. Tabl. I, 83), en juin, avortement d'un fœtus de 6 mois mort.	1	1	1	1
208	6,2	1cc 2	Homme normal		1	1	1	1
209	5,5	1cc 4	Homme normal		1	1	1	1
210	6,2	1cc 4	Homme normal		1	1	1	1

TABLEAU III : ESSAIS CHIMIQUES

N° D'ORDRE	Quant. Inject.	NATURE DE LA SUBSTANCE	OBSERVATIONS	RÉSULTATS 30m	1h	1h30	2h
211	0cc 5	Adrénaline (chlorhydr.)	*Animal entier.* **I.M = 5** avant l'injection. Injection de 1/2 mgr. en solution au 1/1.000.	1,92	1,69	1,81	—
212	0cc 5	Adrénaline (chlorhydr.)	*Hypophysectomie totale :* **I.M = 1** avant l'injection. Injection de 1/10 mgr. en solution au 1/5.000.	1	1	1	1
213	0cc 5	Adrénaline (chlorhydr.)	*Hypophysectomie incomplète :* **I.M = 2,50** avant injection. Injection de 1/10 mgr. en solution au 1/5.000.	2,46	2,52	2,50	2,56
214	2cc 5	Adrénaline (chlorhydr.)	*Hypophysectomie incomplète :* **I.M = 1,83** avant injection. Injection de 1/2 mgr. en solution au 1/5.000.	1,60	—	1,65	—
215	0cc 5	Adrénaline (chlorhydr.)	*Hypophysectomie incomplète :* **I.M = 1,73** avant injection. Injection de 1/2 mgr. en solution au 1/1.000.	1,76	1,80	1,78	—
216	1cc	Adrénaline (chlorhydr.)	*Hypophysectomie incomplète :* **I.M = 2,90** avant injection. Injection de 1 mgr. en solution au 1/1.000.	1,77	2,22	—	—
217	2cc 5	Adrénaline (chlorhydr.)	*Hypophysectomie incomplète :* **I.M = 1,75** avant injection. Injection de 1 mgr. en solution au 1/2.500.	2,70	2,97	4	—
218	———	Vapeurs d'éther (10cc)	*Hypophysectomie totale.* Exposition : 3 minutes.	1	1	1	1
219	———	Vapeurs d'éther (10cc)	— Exposition : 5 minutes.	1	1	1	1
220	———	Vapeurs d'éther (10cc)	— Exposition : 10 minutes.	1	mort	mort	mort
221	———	Vap. chloroforme (10cc)	— Exposition : 3 minutes.	1	1	1	—
222	———	Vap. chloroforme (10cc)	— Exposition : 5 minutes.	1,82	mort	mort	mort
223	———	Vap. nitr. d'amyle (10 gttes)	— Exposition : 5 minutes.	1	1	1	—
224	1cc	Extrait post-hypoph.	— Injection 1/2 unité de Pitraphorin Sherring.	3,10	4,65	—	—
225	1cc	Œstradiol (benzoate)	*Hypophysect. totale.* Inject. de 50.000 unités de Benzogynœstryl en solution huileuse.	1	1	1	1
226	1cc	Progestérone	*Hypophysect. totale.* Inject. de 5 mgr. de rutogyl en solution huileuse.	1	1	1	1
227	2cc	Prolans urinaires	*Hypophysect. totale.* Inject. de 100 unités-rat d'Antélobine Byla. Présence possible d'intermédine.	1,32	2,51	2,36	—
228	1cc	Ephédrine (chlorhydr.)	*Hypophysect. totale.* Inject. de 1 mgr. en solut. au 1/1.000.	1	1	1	—
229	1cc	Ephédrine (chlorhydr.)	*Hypophysect. incompl.* Inject. de 1 mgr. en solution au 1/1.000. **I.M = 1,30** avant l'injection.	1,69	2,45	2,20	—
230	1cc 2	Urines traitées par Na OH	Mme PRO... Grossesse de 8 mois 1/2. Urines brutes ont donné : I.M. = 1,35 en 30 minutes. (Cf. I, N° 138).	1,70	2,14	—	—
231	2cc	Urines traitées par Na OH	Mme M... Grossesse de 4 mois. Les urines brutes ont donné : I.M = 1,30 en 30 minutes. (Cf. I, N° 81).	1,50	1,76	—	—
232	1cc 6	Urines traitées par Na OH	Mme PES... Grossesse de 3 mois. Les urines brutes ont donné : I.M. = 2,10 en 30 minutes. (Cf. I, N° 60).	2,32	2,61	—	—
233	1cc 4	Extrait charbon-acétone	Mme RES... Grossesse de 7 mois. Les urines brutes ont donné une réaction positive. (Cf. I, N° 118).	1	1	1	—
234	1cc 5	Extrait acétonique	Mme LAB... Grossesse de 7 mois. Les urines brutes ont				

235	1cc 4	Extrait acétonique	M... Grossesse de 5 mois. Urines brutes positives. (I.M, = 2,07 après 1 heure). Cf. I., N° 133.	1,72	2,11	—	—
236	1cc	Extrait acétonique	Mme Dep... Grossesse de 8 mois. Urines brutes positives. (I.M = 1,68 après 1 heure). Cf. I, N° 128.	1,47	1,78	—	—
237	1cc	Extrait acétonique	Mme Na... Grossesse de 5 mois. Urines brutes positives. (I.M. = 1,89 après 30 minutes). Cf. I, N° 91.	1,52	1,70	—	—
238	1cc 4	Extrait acétone-alcool	Mme Na... Grossesse de 5 mois. Mêmes urines que dans le N° 237.	1,71	2,01	—	—
239	1cc 2	Extrait acétone-alcool	Mme Gil... Grossesse de 1 mois. Urines brutes positives. (Cf. I, N° 15).	1	1	1	1
240	1cc 3	Extrait CO^3 Ca-alcool	Mme Bob... Grossesse de 5 mois. Départ 250cc d'urines. Contact 48 h. Urines brutes positives (I.M = 1,30 et 1,48 après 1 heure). Cf. I, Nos 95 et 96.	1	1	1	1
241	1cc 1	Extrait magnésie-alcool	Mme Bob... Gross. de 5 mois. Mêmes urines que dans le N° 240. Départ 250cc, contact 48 h.	1	1	1	1
242	1cc 2	Extrait alumine-alcool	Mme Bob... Mêmes urines que ci-dessus. Départ 250cc, contact 48 h.	2,05	2,40	3,80	—
243	1cc 1	Extrait kaolin-alcool	Mme Bob... Voir Nos 95, 96, 240 à 242. Départ 250cc, contact 48 h.	1,70	2,40	2,95	—
244	1cc 5	Extrait charbon-alcool	Mme R... Grossesse de 1 mois 10 jours. Urines 2 fois positives (I.M = 1,58 et 1,44 après 30 min.). Cf. I, Nos 38 et 39. Départ 200cc, contact 21 h.	1,90	3,10	—	—
245	1cc 3	Extrait kaolin-alcool	Mme Gom... Grossesse de 1 mois 1/2. Urines positives à 1,80 en 30 min. Départ 100cc, *contact 1 h.*	1,50	1,56	—	—
246	1cc 4	Extrait kaolin-alcool	Mme Ge... Grossesse de 1 mois 1/2. Urines positives à 1,63 en 30 min. *Départ* 50cc, contact 24 h.	1	1	1	1
247	1cc 4	Extrait kaolin-alcool	Mme Y. P... Grossesse de 1 mois 1/2. Urines 3 fois posit. (Cf. I, Nos 53 à 55). *Départ* 80 cc, contact 37 h.	1	1	1	1
248	0cc 8	Extrait kaolin-alcool	Mme R... Grossesse de 1 mois 22 jours. Urines positives. (Cf. I, N° 44). Départ 250cc, contact 23 h.	2,12	2,70	—	—
249	1cc 5	Extrait kaolin-alcool	Mme R... Grossesse de 2 mois 1/2. Urines positives à 1,92 en 1 h. (Cf. I, N° 73). Départ 200 cc, contact 24 h.	2,08	2,97	—	—
250	1cc 5	Extrait kaolin-alcool	Mme Lal... Grossesse de 1 mois. Urines faiblement positives. (I.M. = 1,40 en 1 heure). Cf. I, N° 9. Départ 200cc, contact 48 h.	1,63	2,11	2,57	—
251	1cc	Extrait kaolin-alcool	Mme Pey... Grossesse de 2 mois, menace d'avortement. Urines faiblement positives. (Cf. I, N° 28). Départ 200cc, contact 48 h.	1,83	2,36	—	—
252	1cc 5	Extrait kaolin-alcool	Mme Duf... *Môle hydatiforme.* Urines très posit. (Cf. II, Nos 147 et 148). Départ 80cc, contact 69 h.	2,68	3,37	4,03	—
253	1cc 4	Extrait kaolin-alcool	Mme Mai... *Accouchée depuis 1 jour d'un fœtus macéré.* Urines négatives. (Cf. II, N° 159). Départ 200cc, contact 53 heures.	1	1	1	1
254	1cc 3	Extrait kaolin-alcool	Mme R... 13e *jour du cycle menstruel.* Urines négatives. (Cf. II, N° 195). Départ 250cc, contact 41 h.	1	1	1	1
255	1cc 2	Extrait kaolin-alcool	Mme Mi... 14e *jour du cycle menstruel.* Urines négatives. (Cf. II, N° 203). Départ 250cc, contact 48 h.	1	1	1	1
256	0cc 8	Extrait kaolin-alcool	Mme Bab... 22e *jour du cycle menstruel.* Urines négatives. (Cf. II, N° 202). Départ 200cc, contact 47 h.	1	1	1	1
257	1cc 2	Extrait kaolin-alcool	Mme R... 26e *jour du cycle menstruel.* Urines négatives. (Cf. II, N° 200). Départ 250cc, contact 24 h.	1	1	1	1
258	2cc	Extrait kaolin-alcool	Mme Mor... *Hypofolliculinie.* 14e *jour du cycle.* Urines négatives. (Cf. II, N° 205). Départ 250cc, contact 30 heures.	1	1	1	1

BIBLIOGRAPHIE

A

ABDERHALDEN : « Die Bedeutung der Abwehrfermente für die Forschung und die Klinik ». *Münch. Med Wochensch* 27 juin 1941, p. 726.

ABEL (J.-J.) : « On unitary versus multiple hormone theory of posterior pituitary principles ». *J. Pharm. a. exper. Therap.* 1930, *40*, 139.

ABELOUS (J.-E.) : « Les troubles de la pigmentation de la grenouille à la suite de la destruction des glandes surrénales ». *C. R. Soc. Biol.*, 1904, *56*, 952.

ABELOUS (J.-E.) et LANGLOIS (P.) : « Note sur le fonctionnement des capsules surrénales chez la grenouille ». *C. R. Soc. Biol.*, 1891, *43*, 792.

ABOLIN (L.) : « Beeinflussung des Farbenwechsels der Fische durch Chemikalien ». I, II. *Arch. mikr. anat.* 1925, *104*.

ABRAMOWITZ (A.-A.) : « The pituitary control of chromatophores in the dog fish ». *The Amer. Naturalist*, 1939, *73*, n° 476, p. 208.

ABRAMOWITZ (A.-A.) : « The role of the hypophyseal mélanophore hormone in the chromatic physiology of the Fundulus ». *Biological Bull.*, août 1937, *73*, 134.

ABRAMSON, HURWITT et LESNICK : « Relaxin in human serum as test of pregnancy ». *Surg. Gynecol. a. Obst.*, 1937, *65*, 335.

ALLAN (H.) et WILES (P.) : « The role of the pituitary gland in pregnancy and parturition ». *Journ. Physiol.*, 1932, *75*, 23.

ALLEN (B.-M.) : « The results of extirpation of the anterior lobe of the hypophysis and of the thyroïd of Rana pipiens larvae ». *Sciences N. Y.*, 1916, *44*, 755.

ALLEN (B.-M.) : « Experiments in the transplantation of the hypophysis of adult Rana pipiens to tadpoles ». *Sciences N. Y.*, 1920, *52*, 274.

ALLEN (B.-M.) : « Source of pigmentary hormone of amphibian hypophysis ». *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. N. Y.*, 1930, *27*, 504.

ALLEN (E.) : « *Sex and internal secretions* ». The Williams a. Wilkins C^ie^ Baltimore, 2^e^ éd., 1939.

ANSELMINO (J.) et HOFFMANN (F.) : « *Substances ante-hypophysaires* ». Springer, Berlin, 1941.

Aschheim (S.) : « Ueber die Funktion des Ovarium ». *Zeitsch f. Geb. und Gynaek.*, 1926, *90*, 387.

Aschheim (S.) : « Hormon und Schwangerschaft ». *Med. Klin. Berlin*, 1926, *22*, 2.023.

Aschheim (S.) : « Weitere Untersuchungen über Hormone und Schwangerschaft ». *Arch. für Gynaek.*, 1927, *132*, 179.

Aschheim (S.) : « Die Schwangerschaft Diagnose aus dem Harn durch Nachweiss des Hypophysenvorderlappenhormons ». *Klin. Wochenschr.*, 1928, *7*, 1.453.

Aschheim (S.) : « Contribution à l'étude de l'action des hormones gonadotropes ». *Colloque Singer-Polignac*, 1937, p. 228. *Hermann, Paris*, 1938.

Aschheim (S.) : « Méthode simplifiée pour le diagnostic biologique de la grossesse ». *Sem. Hôp. Paris*, 1945, *21*, 912.

Aschheim (S.) et Zondek (B.) : « Das Hormon des Hypophysenvorderlappen; Testobjekt zum Nachweiss des Hormons ». *Klin. Wochenschr.*, 1927, *6*, 248.

Aschheim (S.) et Zondek (B.) : « Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn von Schwangeren ». *Klin. Wochenschr.*, 1927, *6*, 1.322.

Aschheim (S.) et Zondek (B.) : « Hypophysenvorderlappen und Ovarium. Beziehungen der Endokrinen Drüsen zur Ovarialfunktion ». *Arch. f. Gynaek.*, 1927, *130*, 1.

Aschheim (S.) et Zondek (B.) : « Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn (Durch Hormon Nachweiss) ». *Klin. Wochenschr.*, 1928, *7*, 8.

Astwood (E.-B.) et Geschickter (C.-F.) : « The pigmentary response in Phoxinus Laevis. The effect of blood from a patient with mélanosarcome ». *Amer. J. Canc.*, 1936, *26*, 493.

Atwell (W.-J.) : « On the nature of the pigmentary changes following hypophysectomy in the frog larva ». *Sciences N. Y.*, 1919, *49*, 48.

Atwell (W.-J.) : « Functional transplants of primordium of epithelial hypophysis in amphibia ». *Anat. Rec.*, 1937, *68*, 431.

Atwell (W.-J.) et Holley (E.) : « Extirpation of pars intermedia of hypophysis in young amphibian with subsequent silvery condition and metamorphosis ». *Journ. exp. Zool.*, 1936, *73*, 23.

Aubrun (E.-A.) : « Symptômes cutanés du crapaud hypophyséoprive ». *C. R. Soc. Biol.*, 1935, *120*, 734.

B

Babak (E.) : « Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Vermehrung der Hautchromatophoren ». *Pflüger's Arch.*, 1912, *149*, 462.

Babin (R.), Moretti (G.-F.) et Rives (M.) : « Concentration de l'hormone mélanophoro-dilatatrice dans les urines ». *Soc. Biol. Bordeaux*, 21 mai 1947.

Bakowski (M). : « Ueber die Struktur der Melanophoren des Frosches ». *Ztschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat.*, 1942, *32*, 301.

Ballowitz (E.) : « Die Nervenendigungen der Pigmentzellen ». *Ztschr. f. wiss. Zool.*, 1893, *56*, 673.

BALTIF (L.-M.), Mme CANANTEANU et ORNSTEIN (E.) : « Sur l'action mélanophoro-dilatatrice du lobe antérieur de l'hypophyse ». *Bull. Sect. Endocr. Soc. Roumaine Neurol.*, déc. 1935, p. 241.

BAYER : « Hypophyse und Chromatophorenreaktion ». *Endocrin*, 1930, *6*, 249.

BEAUVALLET (M.) : « L'excitabilité des cellules pigmentaires de l'écaille de poisson ». *Thèse Sciences, Paris*, 1935.

BEAUVALLET (M.) : « Action comparée de l'acétylcholine et de l'adrénaline sur les mélanophores préalablement atropinisés ». *C. R. Soc. Biol.*, 1938, *128*, 635.

BEAUVALLET (M.) : « Actions antagonistes sur les chromatophores de poissons; hypothèses sur leur mécanisme ». *C. R. Soc. Biol.*, 1939, *131*, 875.

BECLÈRE (Cl.) : *Soc. Franç. de Gynéc.*, 20 déc. 1944.

BENTEJAC (J.-Y.) : « Le test des mélanophores chez la grenouille ». *Thèse Médecine, Bordeaux*, 1938.

BERCOVITZ (Z.) : « Pregnancy diagnosis by pupillary réaction ». *Am. J. Obst et Gynéc.*, 1930, *19*, 767.

BESSON (S.) : « Les cellules pigmentaires du tégument externe chez la grenouille ». *Thèse Sciences, Nancy*, 1944. G. Thomas, éditeur. Nancy, 1946.

BIEDERMANN : « Ueber der Farbenwechsel der Frösche ». *Pflüger's Arch.*, 1892, *1*, 455.

BIGNEY : « The effect of adrenalin on the pigment migration in the melanophores of the skin and in the pigment cells of the retina of the frog ». *J. exp. Biol.*, 1919, 27, 391.

BIMMERMANN (E.-H.) : « Ueber den Einfluss der Nerven auf die Pigmentzellen des Frosches ». *Inaug. Dissert. Strasbourg*, 1878.

BINET (L.), VERNE et Mlle LUXEMBOURG : « Les mélanocytes de l'écaille de poisson, réactif in vitro pour le diagnostic de la grossesse ». *C. R. Soc. Biol.*, 1934, *116*, 1.241.

BLANCHARD (L.), PRUDHOMME (N.) et SIMONNET (H.) : « Action des extraits post-hypophysaires et de l'adrénaline sur les mélanophores d'Acerina, de Cernua et de Gobio fluvialis ». *C. R. Soc. Biol.*, 1932, *110*, 760.

BLINOV : « Réaction mélanophorique chez la grenouille après injection d'urines et de salive humaine ». *Vol. Jubil. Parhon.*, janv. 1934, p. 109.

BONNAL (R.) : « Hypophyse et pigmentation intra-oculaire ». *Thèse Médecine, Bordeaux*, 1946.

BORCHART (L.) : « Die Hypophysenglykosurie und ihre Beziehung zum Diabetes bei der Akromegalie ». *Z. f. Klin. Méd. Berlin*, 1908, *66*, 332.

BORNSTEIN (W.) : « Beitrag zur Frage der Physiologischen Grundlagen des wahrnehmens ; II. Mitteilung : über den Einfluss « heller » und « dunkler » Reize auf den Melanophorenzustand der Amphibien haut ». *Arch. intern. Pharmac.*, 1939, *61*, 387.

BÖTTGER (G.) : « Ueber einen neuen Intermedintest und die Intermedinréaktion der Elritze ». *Zeit. vergleich. Physiol.*, 1935, *21*, 415.

Bôttger (G.) : « Pigmenthormon und antidiuretische Prinzip der Hypophyse ». *Klin. Wochenschr.*, 1936, *15*, 73.

Bôttger (G.) : « Ueber das Pigmenthormon I, II et III ». *Z. ges. exp. Méd.*, 1937, *101*, 42, 48 et 55.

Bourc : *Soc. Franç. de Gynéc.*, 20 déc. 1944.

Brindeau, Hinglais (H.) et Hinglais (M.) : « Sécrétion gonadotrope et activité fonctionnelle placentaire ». *Presse Médicale*, 1939, *47*, 281.

Brouha (L.) et Collin (R.) : « Equilibre hormonal et gravidité; rôle endocrine du placenta ». *Assoc. des Physiologistes, Paris*, juin 1945, p. 241.

Brouha (L.) et Hinglais (H.) : « La réaction de Brouha, Hinglais et Simonnet, expérimentation sur 1.223 souriceaux mâles ». *Gynéc. et Obst.*, 1931, *24*, 42.

Brouha (L.), Hinglais (H.) et Simonnet (H.) : « A propos d'un nouveau test hormonal de la gestation ». *C. R. Soc. Biol.*, 1928, *99*, 1.384.

Brouha (L.) et Simonnet (H.) : « L'hypophyse et la secrétion interne de l'ovaire ». *C. R. Soc. Biol.*, 1927, *96*, 1.275.

Brouha (L.) et Simonnet (H.) : « Action de l'urine de femme gravide sur le tractus génital mâle ». *C. R. Soc. Biol.*, 1929, *101*, 368.

C

Cambar (R.) : « L'ablation de l'hypophyse chez la grenouille. Technique, intérêt biologique ». *Séance inaug. Soc. Linéenne, Bordeaux*, janv. 1944.

Carnot (P.) : « Recherches sur le mécanisme de la pigmentation ». *Thèse Sciences, Paris*, 1896.

Collin (R.) : « Sur la régénération des cellules hypophysaires chez l'homme ». *C. R. Soc. Biol.*, 1924, *90*, 1.053.

Collin (R.) : « Sur l'endocytogénèse ». *C. R. Soc. Biol.*, 1924, *90*, 1.419.

Collin (R.) : « La neurocrinie hypophysaire. Etude histophysiologique du complexe tubéro-infundibulo-pituitaire ». *Arch. morph. gen. et exp.*, 1928, *28*.

Collin (R.) : « Origine des hormones post-hyphophysaires ». *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *112*.

Collin (R.) : « *L'hypophyse* ». Thomas, éditeur, Nancy, 1933 (1er recueil) et 1937 (2e recueil).

Collin (R.) : « Sur l'existence probable d'une voie réflexe courte opto-hypothalamo-hypophysaire ». *C. R. Soc. Biol.*, 1935, *118*, 1.560.

Collin (R.) : « Sur l'innervation des mélanocytes et des guanocytes dans la queue de tétard de Rana Temporaria ». *C. R. Soc. Biol.*, 1936.

Collin (R.) : « *Innervation de la glande pituitaire* ». Hermann et Cie, éditeurs, Paris, 1937.

Collin (R.) : « *Les hormones* ». Albin Michel, édit. Paris, 1938.

Collin (R.) et Drouet (P.) : « Le lobe antérieur de la glande pituitaire et la réaction des mélanophores ». *C. R. Soc. Biol.*, 1932, *110*, 1.151.

Collin (R.) et Drouet (P.) : « Présence dans l'urine de certains malades d'un principe mélanophoro-dilatateur. Son application comme test du fonctionnement de l'hypophyse ». *Rev. Franç. d'Endocrinol.*, juin 1933, n° 3, p. 161. *Bull. Acad. Méd., Paris*, 1933, *109*, 794.

Collin (R.) et Drouet (P.) : « Dissociation des effets mélanophorique et érythrophorique chez le vairon sous l'influence de produits post-hypophysaires ». *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *113*, 1.215.

Collin (R.) et Drouet (P.) : « Présence d'intermédine dans le tuber ». *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *112*.

Collin (R.) et Drouet (P.) : « A propos du déterminisme de l'expansion des chromatophores chez la grenouille ». *C. R. Soc. Biol.*, 1934, *116*, 724.

Collin (R.) et Drouet (P.) : « La réaction des érythrophores est-elle liée au fonctionnement hypophysaire ? » *C. R. Soc. Biol.*, 1934, *115*, 1.441.

Collin (R.) et Drouet (P.) : « Action de certains extraits hypophysaires sur les mélanophores de la grenouille ». *C. R. Soc. Biol.*, 1935, *118*, 1.008.

Collin (R.) et Florentin (P.) : « La réaction des mélanophores au cours de la gestation ». *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *113*, 1.218.

Collin (R.) et Florentin (P.) : « Présence d'intermédine chez les têtards très jeunes de Rana Temporaria ». *C. R. Assoc. Anat.*, 1933.

Collin (R.) et Florentin (P.) : « Ganglions nerveux et réaction mélanophorique ». *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *115*, 162.

Collin (R.), Fontaine (Th.) et Grognot (P.) : « Valeur fonctionnelle de l'innervation hypothalamique de la glande pituitaire ». *C. R. Assoc. Anat., Marseille*, 1937, p. 88.

Collin (R.) et Stutinsky (F.) : « Amitose, endocytose, endocytogénèse de la glande pituitaire de la grenouille ». *C. R. Soc. Biol.*, 1937, *126*, 334.

Collip (J.-B.) : *Cold-Spring. Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1937, 5, 210.

Corona et Moroni : « Contributo allo studio dell' estratto di capsulli surrénali ». *La Riforma Medica*, 1898, 14.

Courrier (R.) : « Endocrinologie de la gestation ». *Masson, édit., Paris*, 1945.

Crosnier (R.) : « Diagnostic biologique de la grossesse ». *France Médicale*, sept. 1946, n° 9.

D

Dadlez (J.) et Koskowski (W.) : « L'action mélanophorique des extraits d'organe ». *C. R. Soc. Biol.*, 1935, *118*, 1.008.

Dale (H.) : « The action of extracts of the pituitary body ». *Biochem. Journ.*, 1909, *4*, 427.

Dale (H.) et Dudley : « The physiological action of N - methylhistamine and of tetrahydropyrido - 3 - 4 - iminazole ». *J. Pharm. exp. Therap. Balt.*, 1921, *18*, 103.

Danielopolu (D.) : « Nouvelle conception sur le mécanisme de régulation des organes de la vie végétative et de la vie de relation ». *An. Endocrinol.*, 1943, 1 et 69.

De Beer (G.-R.) : « *The comparative anatomy, histology and development of the pituitary body* ». Oliver et Boyd, édit. Edinb., 1926.

Dietel (F.-G.) : « Untersuchungen über das Melanophorenhormon, I, II et III ». *Klin. Wochenschr.*, 1932, 2.075; 1933, 1.029, 1.083 et 1.358; 1934, 796.

Dietel (F.-G.) : « Hypophyseninterlappen-sekretbinbende stoffe im Schwangerenserum ». *Klin. Wochenschr.*, 1933, 1.683.

Dietel (F.-G.) : « Vorkommen, Wirkungsweise und Schicksal des Melanophorenhormons im Warmblutorganismus ». *Arch. f. Gynaek.*, 1933, *114*, 496.

Doods (E.-G.) : « Recherches récentes sur le lobe postérieur de l'hypophyse ». *Paris Médical*, 9 oct. 1937, 274.

Dreyfus (A.) : « Recherches expérimentales sur le mode d'action de quelques hormones dans la pigmentation ». *Thèse Médecine, Paris*, 1937.

Drouet (P.) et Florentin (P.) : « Principe mélanotrope de l'urine de femme enceinte ». *C. R. Soc. Biol.*, 1933, 1.218.

Drouet (P.), Mathieu et Colleson : « Principes hypophysaires dans l'urine ». *Bull. Soc. Méd. Hôp.*, 1933, 1.485.

Dychno (A.) : *Akus. i. Gynek.*, 1936, 542.

E

Edinger : « Ueber die Hypophysis ». *München med. Wochenschr.*, 1911, *58*, 1.047.

Ehrardt (K.) : « Die Hypophysen-Melanophoren Reaktion und ihre klinische Auswertung ». *Münch. med. Wochenschr.*, 1927, *74*, 1.879.

Ehrardt (K.) : « Klinische und experimentelle Untersuchungen über Hypophysenhormon ». *Arch. f. Gynaek.*, 1927, *132*, 196.

Ehrardt (K) : « Der Gehalt der menschichen Hypophyse an Melanophorenhormon ». *Münch. med. Wochenschr.*, 1929, 321.

Ehrardt (K.) : « Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen über das Melanophorenagens des Hypophyseninterlappen ». *Arch. f. Gynaek.*, 1932, *148*, 265.

Ehrardt (K.) : « Ueber die Zuverlassigk eit der Friedmanschen Schnellreaktion für die Diagnose der Schwangerschaft ». *Münch. med. Wochenschr.*, 1933, *80*, 1.985.

Elias (H.) : « Ausgleich und Auswertung des Mangels an Schärfentiefe Mittels der Kinematographie. Zur frage der Anastomosen der Epidermis Melanophoren ». *Z. mikr. Anat. Forsch.*, 1936, 52, 424.

Elias (H.) : « Zur vergleichenden Histologie und Entwicklungsgeschichte der Haut der Anuren. Unter besonderer Berucksichtigung der Chromatophoren und der lavalen Epidermis ». *Z. mikr. Anat. Forsch.*, 1937, *41*, 359 et 416.

Enami (M.-S.) : « Rôle de la sécrétion hypophysaire sur le changement de coloration chez un poisson-chat (Parasilurus Asotus) ». *C. R. Soc. Biol.*, 1939, *130*, 1.498.

Engel (P.) : « Untersuchungen über den hahnenkamm Test zum Nachweiss des menschlichen Hormon ». *Arch. intern. Pharm. et Therap.*, 1939, *61*, 354.

Erdheim et Stumme : « Ueber die Schwangerschafts-veranderung der hyphophyse ». *Ziegler's Beitr. z. path. Anat.*, 1909, *46*, 1.

Evans (E.-I.) : « Recent advance in physiology of sex. ». *Med. An. Columbia*, 1932, *1*, 193 et 217.

Evans (H.-M.), Korpi (K.), Pencharz (R.-I.) et Simpson (M.-E.) : « On separation and properties of antagonist pituitary substance inhibiting ovarian response to gonadotropic hormones ». *University of California publ. in Anat.*, 1936, *1*, 237.

Evans (H.-M.) et Long (J.-A.) : « The effects of the anterior lobe administred intraperitoneally upon growth, maturity and oestrous cycles in the Rat ». *Anat. Rec.*, 1921, *21*, 62.

F

Farini (A.) : « Iperglycemia ed ipertensione (nephritica) ». *Gazz. Osp. Milano*, 1913, *34*, 951.

Fenn (W.-O.) : « Active principles of the pituitary posterior lobe ». *Journ. Physiol.*, 1924, 59.

Fevold (H.-L.) : « The follicle stimulating and luteïnizing hormones of the anterior pituitary ». *In* Allen (E.) : *Sex and intern. secretions*, Williams et Wilkins C^ie^, édit. Baltimore, 1939, p. 966.

Fevold (H.-L.) et Hisaw (F.-L.) : Voir livre de Robson : « *Recent advances in sex and reproductive physiology* ». Churchill, édit., Londres, 1934, p. 84.

Fevold (H.-L.) et Hisaw (F.-L.) : « Concentration of gonadotropic substance from pregnancy urine ». *Proc. Sec. exp. Biol. et Med.* 1936, *34*, 712.

Fevold (H.-L.), Hisaw (F.-L.) et Greep (R.) : « Effect of oestrin on activity of anterior lobe of pituitary ». *Am. J. Physiol.*, 1936, *114*, 508.

Fevold (H.-L.), Hisaw (F.-L.) et Leonard (S.-L.) : « Gonad stimulating and luteïnizing hormones of anterior lobe of hypophysis ». *Am. J. Physiol.*, 1931, *97*, 291.

Fevold (H.-L.), Hisaw (F.-L.) et Leonard (S.-L.) : « Hormones of the corpus luteum. Separation and purification of the active substance ». *Am. Chim. Soc.*, 1932, *54*, 254.

Fischel (A.) : « Beitrage zur Physiologie der Pigmentzelle ». *Anat. Hefte*, 1920, *58*, 1.

Fischel (A.) : « Ursachen tierischer Farbkleidung ». *Arch. f. Entw. mech.*, 1920, *3*.

Fischer. (C.) : « The site of formation of the posterior lobe hormones » *Endocrinology*, 1937, *21*, 19.

Florentin (P.) : « L'excrétion de la colloïde pituitaire chez le crapaud (Bufo vulgaris) ». *C. R. Soc. Biol.*, 1934, *117*, 185.

FLORENTIN (P.) : « Les réflexes photo-pigmentaires chez les batraciens et la notion de physiologie spécifique ». *Bull. Soc. Sc., Nancy*, 1937, *9*, 261.

FLORENTIN (P.) et STUTINSKY (S.) : « Modifications cytologiques de la glande pituitaire des grenouilles maintenues à l'obscurité ». *C. R. Soc. Biol.*, 1936, *122*, 674.

FOLEY (S.-G.) : *Biol. Rev.*, 1940, *15*, 421.

FOSTVEDT (G.) : « Preliminary in vitro studies of melanophore principle activity of pituitary gland ». *Proc. Soc. exp. Biol. et Med., N. Y.*, 1939, *40*, 302.

FOSTVEDT (G.) : *Endocrinology*, 1940, *27*, 100.

FRANZ (V.) : « Struktur und Mechanismus der Melanophoren im Farbkleid der Teleostier ». *Z. Zellforsh.*, 1935, *23*, 150.

FRANZ (V.) : « Struktur und Mechanismus der Melanophoren. Teil II Das Endoskelett ». *Z. f. Zellforsh. u. mikr. Anat.*, 1939-40 *30*, 194.

FRASER (A.-M.) : « Alleged antidiuretic action of pigmentary hormones of pituitary gland ». *J. Phorm. a. exp. Therap.*, 1937, *60*, 82.

FRASER (A.-M.) : « Diuretic action of ocytocic hormone of pituitary gland and its effects on assays of pituitary extracts ». *J. Pharm. a. exp. Therap.*, 1937, *60*, 89.

FUCHS (R.-F.) : « Zur Physiologie der Pigmentzellen ». *Biol. Zbl.*, 1906, *26*, 863 et 888.

FUCHS (R.-F.) : « Der Farbenwechsel und die chromatische Hautfunktion der Tiere ». *Handbuch. der vergl. Physiol. III*, 2e *partie, Iéna*, 1914.

G

GAILLARD (P.-J.) : « An expérimental contribution to the origin of the pars intermedia of the hypophysis ». *Acta Neerl. Morph.*, 1937, 3.

GALANSKY : « *Thèse (dissertation), Rostock*, 1936.

GEILING (E.-M.-K.) : « Posterior hypophysis ». *J. Am. Med. Assoc.*, 1935, *104*, 738.

GEILING (E.-M.-K.) : « Hypophysis cerebri of finback (balaenoptera pysalis) and sperm whale ». *Bull. John Hopkins Hosp.*, 1935, *57*, 123.

GEILING (E.-M.-K.) et EDDY (G.-A.) : *Proc. Soc. exp. Biol. N. Y.*, 1928, *26*, 148.

GEILING (E.-M.-K.) et LEWIS (M.-R.) : « Further informations regarding the mélanophore hormon of the hypophysis cerebri ». *Amer. J. Physiol.*, 1935, *113*, 534.

GEIRINGER (M.) : « Die synergitische Wirkung des Adrenalins und des Thyroxins auf den Farbenwechsel der Amphibien (Hyla arborea) und der Fische (Phoxinus laevis), sowie auf die Reifung der Amphibien (Bufo vulgaris) ». *Arch. intern. Pharmac.*, 1938, *60*, 251.

GENTÈS : « Recherches sur l'hypophyse et le sac vasculaire des vertébrés ». *Soc. Sc. Arcachon*, 1907.

Gey, Seegar et Hellman : « Production of gonadotropic substance (prolan) by placental cells in tissue culture ». *Sciences, N. Y.*, 1938, *88*, 306.

Giersberg (H.) : *Z. vergl. Physiol.*, 1930, *13*, 258.

Giersberg (H.) : « Der Einfluss der Hypophyse auf die farbigen Chromatophoren der Elritze ». *Zeitschr. vergl. Physiol.*, 1932, *18*, 369.

Gineste (J.-J.) et Coupain (J.) : « Recherches sur la pigmentation mélanique chez les vertébrés inférieurs ». *Lille*, 1943.

Giusti et Houssay (B.-A.) : « Altérations cutanées chez le crapaud hypophysectomisé ». *C. R. Soc. Biol.*, 1921, *102*, 597.

Giusti et Houssay (B.-A.) : « Rôle de l'hypophyse et du cerveau dans la production des altérations cutanées chez le crapaud ». *C. R. Soc. Biol.*, 1922, 1.112.

Giusti et Houssay (B.-A.) : « Modifications cutanées ou génitales chez le crapaud par hypophysectomie ou par lésion du cerveau ». *C. R. Soc. Biol.*, 1924, 316.

Griffiths (M.) : « Secretory elements of the pars nervosa of the pituitary ». *Nature*, 1938, 286.

H

Hadjioloff (A.) : « La coloration de la peau de grenouille et ses mécanismes histologiques ». *Bull. Hist. Appl.*, 1929, *6*, 286.

Halluin (L.) : « Solidarité fonctionnelle entre l'hypophyse et l'hypothalamus ». *Rev. Prat. Biol. Appl.*, déc. 1934, p. 353.

Hamburger (C.) : « Studies on gonadotropic hormones from the hypophysis and chrorionic tissue ». *Acta Path. et Microb. Scandin.*, 1933, *17*, 1.

Hamburger (C.) : « Les hormones gonadotropes ». *Monde et Médecine*, mars 1939, 7.

Hasama (B.-I.) : « On the effect of the pituitary boby upon the epidermal melanophore of the toad ». *J. Pharm. exp. Therap.* (Baltimore), 1931, *41*, 179.

Hasama (B.-I.) : « Ueber die Aktionsströme aus der Froschhypophyse bei Aufenhalt im Dunkeln ». *Pflügers Arch.*, 1937, *239*, 400.

Heller : *J. Physiol.*, 1940, *98*, 405.

Herrick (E.-H.) : « The structure of epidermal melanophore in the frog tadpoles ». *Bioll. Bull.*, 1933, *64*, 304.

Hewer (H.-R.) : « Studies in amphibian colour changes », *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 1923, *95*, 6 et 286.

Heymans (C.) et Bouckaert (S.-S.) : « Au sujet des influences du pipéridométhyl - 3 - benzodioxane (F. 933) sur le système circulatoire ». *C. R. Soc. Biol.*, 1935, *120*, 79.

Himmer (A.) : « Untersuchungen über den physiologischen und morphologischen Farbwechsel bei Amphibien ». *Arch. f. mikr. Anat. u. Entwick. Mech.*, 1924, *100*, 110.

Hogben (L.) : « The pigment effector system ». *Amer. J. Exp. Biol.*, 1923, 279.

Hogben (L.) : « The comparative physiology of internal secretions ». *Cambridge Univ. Press.*, 1927.

Hogben (L.) : « Chromatic function in elasmobranches fishes ». *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 1936, *120*, 142.

Hogben (L.) et Bellerby (W.) : « Experimental studies on the sexual cycle of the South African claved toad ». *Brit. Journ. Exp. Biol.*, janv. 1938.

Hogben (L.) et Gordon (C.) : « Studies on pituitary separate identity of pressor and melanophore principles ». *Brit. J. Exp. Biol.*, 1930, 7, 286.

Hogben (L.) et Mirvish (L.) : « Pigmentary effector system, nervous control of excitement of pallor in reptiles ». *Brit. J. Exp. Biol.*, 1928, 5, 292.

Hogben (L.) et Slome (D.) : « The dual character of endocrine coordination in amphibian colour change ». *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 1931, B, *108*, 10.

Hogben (L.) et Slome (D.) : « The dual receptive mechanism of the amphibian background response ». *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 1936, B, *120*, 158.

Hogben (L.) et Winton (F.-R.) : « The pigment effector system ». *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 1921, B, *93*, 318; 1922, B, *94*, 151; 1923, B, *95*, 15.

Hogben (L.) et Winton (F.-R.) : *Biochem. Journ.*, 1922, *16*, 619.

Hogben (L.) et Winton (F.-R.) : *Brit. Journ. Exp. Biol.*, 1924, *1*, 249.

Hoocker (D.) : « The reactions of the melanophores of Rana fusca in the absence of nervous control ». *Z. f. Allg. Physiol.*, 1913, *14*, 93.

Houssay (B.-A.) : « La hypophysis de la rana ». *Trab. Lab. Univ. Buen. Aires*, 1910.

Houssay (B.-A.) : « Recherches expérimentales sur l'hypophyse de grenouille (Leptodactylus ocellatus) ». *J. Physiol. et Path. géné.*, 1917, *17*, 406.

Houssay (B.-A.), Biassotti (A.) et Sammartino (R.) : « Modifications fonctionnelles de l'hypophyse après les lésions infundibulo-tubériennes chez le crapaud ». *C. R. Soc. Biol.*, 1935, *120*, 725.

Houssay (B.-A.) et Giusti (L.) : « Les fonctions de l'hypophyse et de la région infundibulo-tubérienne chez le crapaud (Bufo arenarum) ». *C. R. Soc. Biol.*, 1930, *104*, 1105.

Houssay (B.-A.) et Ungar (I.) : « Action de l'hypophyse sur la coloration des batraciens ». *C. R. Soc. Biol.*, 1924, *91*, 20 et 318.

Houssay (B.-A.) et Ungar (I.) : « Facteurs qui règlent la coloration de Leptodactylus ocellatus ». *C. R. Soc. Biol.*, 1925, *93*, 259.

Houssay (B.-A.) et Ungar (I.) : « Influence de divers agents pharmacodynamiques sur la couleur de Leptodactylus ocellatus ». *C. R. Soc. Biol.*, 1925, *93*, 253.

Houssay (B.-A.) et Ungar (I.) : « Modifications produites chez la grenouille par hypophysectomie ou par lésions cérébrales ». *C. R. Soc. Biol.*, 1924, *91*, 317.

Huxley (J.-S.) et Hogben (L.) : « Experiments on amphibian métamorphosis and pigment responses in relation to internal secretions ». *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 1922, B, *93*, 36.

J

Jarkowska (E.-A.) : « Sur la question de la pathogénie de l'œdème de la grenouille après hypophysectomie ». *J. Méd. de l'Acad. d'Ukraine*, 1932, *4*, 291.

Jayle et collaborateurs : *Soc. d'Endocrinologie*, 25 mai 1945.

Jeanneney, Servantie, Hirtz et Bentejac : « Diagnostic biologique des hyperpituitarismes par l'étude de la mélanophorodilatation provoquée chez la grenouille hypophysectomisée ». *Bull. Acad. Méd.*, mai 1939, *121*, 762.

Jores (A.) : « Ueber das Melanophorenhormon Neurerkungen zu den Arbeiten von B. Zondek und H. Krohn ». *Klin. Wochenschr.*, 1932, *11*, 2.116.

Jores (A.) : « Melanophorenhormon und Auge ». *Klin. Wochenschr.*, 1933, *12*, 1.599.

Jores (A.) : « Ueber die Funktionen des Pigmenthormons im menschlichen Organismus ». *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.*, 1933, *45*, 166.

Jores (A.) : « Ueber das Pigmenthormon und ein Funktionen im Saugetierorganismus ». *Med. Welt.*, 1933, 1.629.

Jores (A.) : « Untersuchungen über das Melanophorenhormon und sein Nachweiss im menschlichen Blut ». *Z. Ges. exp. Med.*, 1933, *87*, 266.

Jores (A.) : « Untersuchungen über die Funktion des Pigmenthormons im Warmbluterorganismus ». *Z. Ges. exp. Med.*, 1935, *97*, 207.

Jores (A.) : « Zur Frage der Identitat iwischen Pigmenthormon und Corticotropenhormon ». *Klin. Wochenschr.*, 1935, *14*, 132.

Jores (A.): Welche Schlüsse lassen Sich aus einer mit menschlichen Harn positiven Melanophorenreaktion ziehen. » *Klin. Wochenschr.*, 1936, 1.433.

Jores (A.) : « Ueber die Funktionen der Hypophyse ». *Klin. Wochenschr.*, 1938, 689.

Jores (A.) et Arthur : « Ueber das Vorkomen des Melanophorenhormons im menschlichen Korper Flüssigkeiten ». *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, 1933, *173*, 31.

Jores (A.) et Beck (H.) : « Melanophorenhormon und Nebennieren ». *Z. Ges. exp. Med.*, 1934, *94*, 293.

Jores (A.) et Caesar (K.-G.) : « Ueber die Wirkung des Melanophorenhormons auf Pigmentwanderung und Pupillenweite des Froschauges ». *Pflüger's Arch.*, 1934, *235*, 724.

Jores (A.) et Glogner (O.) : « Gibt es einen Funktionstüchtigen Zwischenlappen der menschlichen Hypophyse ». *Z. Ges. exp. Med.*, 1933, *91*, 91.

Jores (A.) et Helbrun (O.) : « Ueber das Verhalten des Melanophorenhormon im menschlichen Blut wahrend der Gestationsphasen ». *Arch. f. Gynaek.*, 1933, 154.

Jores (A.) et Hoeltz (K.) : « Untersuchungen über die das Melanophorenhormon Binbende Substanz im Blut von tieren und des Menschen nach Dunkelaufenhalt ». *Z. vergl. Physiol.*, 1936, *23*, 571.

Jores (A.) et Lenssen (E.-W.) : « Sind die Erythrophorenreaktion der Elritze und die Melanophorenreaktion der Frosches identisch ». *Endokrin.*, 1933, *12*, 90.

Jores (A.) et Velde (W.) : « Ueber das Workonmen des Melanophorenhormons im menschlichen Organen ». *Naunyn-Schmiedebergs Arch.*, 1933, *173*, 26.

Jores (A.) et Will (G.) : « Erythrophoren und Melanophorenhormon ». *Z. Ges. exp. Med.*, 1934, *94*, 389.

K

Kahn (R.-H.) : « Studien über die Innervation des Chromatophoren auf Grund gegensätzlicher Giftwirkungen ». *Pflüger's Arch.*, 1922, *195*, 337.

Kahn (R.-H.) et Lieben (S.) : « Ueber die scheinbaren Gestaltänderungen der Pigmentzellen ». *Arch. And. u. Physiol.*, 1907, *104*.

Kamitzer-Joseph : Cité par Crosnier.

Kamm (O.) : *Amer. Chem. Soc.*, 1928, *50*, 273.

Kamm (O.) : *Endocrinology*, 1928, *12*, 633.

Kamm (O.) : *Proc. Amer. Soc. Biol. Chem.*, *J. Biol. Chem.*, 1931, 92.

Keller (R.) : *Arch. Ges. Physiol.*, 1895, *61*, 121.

Klein (M.) : « La substance du placenta active sur l'ovaire est-elle une hormone pré-hypophysaire ? » *C. R. Soc. Biol.*, 1929, *102*, 1.070.

Kleinholtz (H.-L.) : « Le principe mélanophorique de l'hypophyse de Fundulus heteroclitus ». *Biologic Bull.*, déc. 1935, 379.

Kleinholtz (H.-L.) : *J. exp. Biol.*, 1938, *15*, 474.

Kleinholtz (H.-L.) et Rahn (H.) : « Distribution of intermedin in pars anterior of chicken pituitary ». *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 1939, 25, 145.

Kleinholtz (H.-L.) et Rahn (H.) : « Distribution of intermedin : new biological method of assays and results of tests under normal and experimental conditions ». *Anat. Rec.*, 1940, *76*, 157.

Koenig (M^lle) : « Etude de l'excitabilité des nerfs vaso-moteurs et pigments-moteurs ». *Thèse Sc. Nat., Paris*, 1915.

Köller (G.) et Rodewald (W.) : « Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Hypophysentätigkeit des Frosches ». *Pflüger's Arch.*, 1933, 232, 637.

Koltzoff (N.-K.) : « Les principes physico-chimiques de l'irritabilité des cellules pigmentaires, musculaires et glandulaires ». *Rev. Gén. Sciences*, 1929, *40*, 165.

Konsuloff (S.) : « Schnelldiagnose der Schwangerschaft durch die Melanophorenreaktion ». *Klin. Wochenschr.*, 1934, 776.

Konsuloff (S.) : « Das Melanophorenhormon im Colostrum ». *Endokrin.*, 1934, *13*, 323.

Konsuloff (S.) : « Das Melanophorenhormon im Urin ». *Klin. Wochenschr.*, 1934, *13*, 490.

Konsuloff (S.) : « Die Fischschuppen als Testobjekt fur die Melanophorenreaktion ». *Z. Ges. exp. Med.*, 1936, *99*, 109.

KROGH (A.) : « The pituitary (posterior lobe) principe in circulating blood ». *J. Pharm. exp. Therap.*, 1926, *29*, 117.

KROHN (H.) : « Ormone del lobo intermedia ipofisano ». *Monit. de Endocr.*, oct. 1934. 797.

L

LAMBILLON (J.) et LEJEUNE (A.) : « La réaction d'expansion des chromatophores de la grenouille peut-elle servir de test fonctionnel post-hypophysaire ? » *C. R. Soc. Biol.*, 1938, *128*, 1.158.

LANDGREBE (F.-W.) : « Maintenance of reproductive activity in Xenopus laevis for pregnancy diagnosis ». *Brit. J. exp. Biol.*, 1939, *16*, 89.

LANDGREBE (F.-H.) et SAMSON : « Le test de grossesse d'Hogben ». *J. Obst. a. Gynéc.*, avril 1944, *51*, 133.

LANDGREBE (F.-H.) et WARING (H.) : « L'hormone du lobe intermédiaire de l'hypophyse ». *Bull. of Assoc. for Study Int. Secret.*, fév. 1941, *28*, 31.

LAURENS (H.) : « The reactions of the melanophores of Amblystoma larvae ». *J. exp. Zool.*, 1915, *18*, 577.

LECOQ et CHAUCHARD : *Soc. de Biol. Clin.*, avril 1946.

L'EPÉE (P.) : « La mélanose de Riehl ». *Thèse Médecine Bordeaux*, 1946, 19.

LESCZYNSKY (R.-J.) : « Ueber die Wirkung von Giften von verschiedenen Typus auf die chromatische Funktion der Froschhaut ». *Arch. intern. Pharmac.*, 1933, *45*, 89.

LIEBEN (S.) : « Ueber die Wirkung von extrakten Chromaffinengerwebe auf die Pigmentzellen ». *Zblt. f. Physiol*, 1906, *20*.

LISTER (J.) : « On the cutaneous pigmentary system of the frog ». *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.*, 1857, *148*, 627.

LOEWE et ILLISON : « Eine einfache Methode zur biologischen Wertbestimmung von Hypophysenpräparaten ». *Klin. Wochenschr.*, 1925, 1.612.

LOISON (C.) : « Modifications des chromatophores de grenouille sous l'influence de diverses substances ». *C. R. Soc. Biol.*, 1923, *88*, 799.

LORINCZ (B.) : « Diagnosis of early pregnancy ». *Gyogyaszat*, 1930, *67*, 324.

LUNDSTROM (H.-M.) et BARD (P.) : « Hypophysal control of cutaneous pigmentation in an elasmobranch fish ». *Biol. Bull.*, fév. 1932, 1.

LUXEMBOURG (M^lle^) : « Hormone mélanotrope et grossesse ». *Thèse Médecine, Paris*, 1938.

M

MAC LEAN (A.-J.) : « The Anuran in biotitration of pituitrin ». *J. Pharm. a. exp. Thérap.*, 1928, *33*, 301.

MAHNERT (A.) : « Untersuchungen über die Gleichwertigkeit des als Hypophysenvorderlappenshormon bezeichneten Stoffe im Harn mit den ähnlich Wirkenden stoffen aus der Hypophyse ». *Zentr. f. Gynaek.*, 1933, *57*, 1.572.

MANDELSTAMM (A.) : « Biologischer nachweiss von Melanophorenhormon bei Schwangerschaft ». *Zentr. f. Gynaek.*, 1935, *59*, 2.737.

MANOILOV (E.-O.) : « Weitere Erfahrungen über eine einfache Serumréaktion zur Schwangerschaftsbestimmung ». *Arch. f. Gynaek.*, 1930, *142*, 474.

MANOILOV (E.-O.) : « Diagnostic de la grossesse au moyen de réactifs chimiques ». *C. R. Soc. Biol.*, 1931, *106*, 913.

MARCOU (I.) : Cité dans POLONOVSKI : *Exposés de biochimie médicale.* 5e série, 1945, 277.

MASSON (P.) et BERGER (L.) : « Sur un nouveau mode de sécrétion interne : la neurocrinie ». *C. R. Acad. Sc. Paris*, 1923, *176*, 1.748.

MATTHEWS (S.-A.) : « Observations on pigment migration within the fish melanophores ». *J. exp. Zool.*, 1931, *58*, 471.

MEYER (E.) : « Versüche uber den Farbwechsel von Gobius und Pleuronectes ». *Zool. Jahrb. (Physiol.)*, 1931, *49*, 231.

MILLOT (J.) : « Influence de l'alimentation sur la pigmentation des vertébrés inférieurs ». *C. R. Assoc. Anat.*, 1923, 361.

MILLOT (J.) : « Le pigment purique chez les vertébrés inférieurs ». *Bull. Biol. Fr. et Belg.*, 1923, *57*, 261.

MINKIEWICZ (R.) : « Rôle des facteurs optiques dans le changement de livrée chez les grenouilles adultes ». *Acta Biol. exp. Varsovie*, 1933, *8*, 102.

MORETTI (G.-F.) : « Effets de l'implantation d'ultra-filtres contenant de l'hormone mélanophorodilatatrice sous la peau des mammifères ». *Note à la Soc. Biol. Bordeaux*, 10 juill. 1947.

MURISIER (P.) : « Le pigment mélanique de la truite et le mécanisme de sa variation quantitative sous l'influence de la lumière ». *Rev. Suisse de Zool.*, 1920-21, *28*, 47, 149 et 243.

MUTCH (J.-R.) et MACKAY (D.) : « The detection and significance of melanophore expanding substance in urine and blood ». *Brit. J. Ophtalm.*, oct. 1943, 27, 434.

O

O'DONOVAN (D.-K.) et COLLIP (J.-B.) : « Specific metabolic principle of pituitary and its relation to melanophore hormone ». *Endocrinology*, 1938, *23*, 718.

OLDHAM (F.-K.) : « Pharmacology and anatomy of hypophysis of Armadillo ». *Anat. Rec.*, 1938, *72*, 265.

OLDHAM (F.-K.), CALLOWAY (N.-O.) et GEILING (E.-M.-K.) : « The melanophore hormone ». *Ergb. Physiol.* 1941, *44*.

OLIVER et SCHAEFFER : « On the physiological action of extracts of pituitary body and certain other glandular organ ». *J. Physiol. Cambridge*, 1895, *18*, 276.

OTT (I.) et SCOTT, (J.-C.) : « Note on the galactagogue action of infundibulin ». *Month cycl. a. M. Bull. Phila.*, 1910, *3*, 663.

P

Parker (G.-H.) : « The influence of light and heat on the movement of the melanophore pigment especially on lizards ». *J. exp. Zool.*, 1906 *3*, 401.

Parker (G.-H.) : « The colour changes of the tree toad in relation to nervous and humoral control ». *Proc. Nat. Acad. Sc. Washington*, 1930, *16*, 395.

Parker (G.-H.) : « Humoral agents in nervous activity ». *Cambridge*, 1932.

Parker (G.-H.) : « Hypophysectomy and colour changes on Teleosteens ». *J. exp. Zool.*, 1934, *69*, 213.

Parker (G.-H.) : « What are the resting and the active states of chromatophores ? ». *Proc. Nat. Acad. Sc. U. S. A.*, 1935, *21*, 286

Parker (G.-H.) : « Color changes in Elasmobranchs ». *Proc. Nat. Acad. Sc. U. S. A.*, 1936, *22*, 55.

Parker (G.-H.) : « Color changes of animals in relation to nervous activity ». *Univ, Pensylv. Press. Philadelphie*, 1936.

Parker (G.-H.) : « Color changes in lizards, particularly in Phrynosoma ». *J. of exp. Biol.*, 1938, *15*, 48.

Parker (G.-H.), Brown (F.-A.) et Odiorne (J.-M.) : « The relation of the eyes to chromatophoral activities. » *Proc. Amer. Acad. Arts Sc.*, 1935, *69*, 439.

Parker (G.-H.) et Porter (H.) : *Biol. Bull.*, 1934, *66*, 30.

Parker (G.-H.) et Scatherty (L.-E.) : « The number of neurohumors in the control of frog melanophores. » *J. Cellul. A. comp. Physiol.*, 1937, *9*, 297.

Pasqualini (R.) : « Diurèse des crapauds privés d'hypophyse ou de son lobe principal. » *C. R. Soc. Biol.*, 1935, *120*, 498.

Paton (D.-M.) et Watson (A.) : « The actions of pituitrin, adrenalin and baryum on the circulation of the bird. » *J. Physiol. Lond.*, 1912, *44*, 413.

Peredelsky (A.) et Blacher (L.) : « Ueber das Schicksal des Melanins in der Haut hypophysektomierten Amphibien ». *Zool. Berl.*, 1930-31, *25*, 232.

Perotti (P.) : « Innervazione nella cute dei batraei. » *Atti della Soc. It. Milano*, 1928, *67*.

Philipp (E.) : « Hypophysenvorderlappen und Placenta. » *Zentr. f. Gynaek*, 1930, *54*, 450.

Philipp (E.) : « Schwangerschaftveranderunger beim Neugeborenen. » *Arch. f. Gynaek*, 1938, *166*, 185.

Popa (G.) et Fielding (U.) : « Vascular link betwen pituitary and hypothalamus. » *Lancet*, 1930, *2*, 238.

Popa (G.) et Fielding (U.) : « L'expansion des mélanophores sous l'action de l'extrait du lobe antérieur de l'hypophyse mélangé avec des globules rouges. » *C. R. Soc. Biol.*, 28 oct. 1933, 1139.

Puccioni et Sirotich : « Sulla specifita della reazione melanoipofisaria nella rana. » *Riv. Ital. Ginecol.*, 1933, *14*, 578.

R

Reiss, Pick (R.) et Winter (K.-A.) : Unterschiede in der Wirkung des Hypophysenvorderlappensexualhormons aus Drüse und Harn. » *Endocrinologie*, 1933, *12*, 18.

Rimer (G.-E.-G.) : « The pituitary gland of Xenopus Laevis. » *Trans. Roy. Soc. Sc. Africa*, 1931, *19*, 341.

Robbins (S.-L.), Parker (F.) et Doyle (W.) : « L'utilisation de la grenouille Sud-Africaine, Xenopus laevis, pour le diagnostic de la grossesse. » *New. England, J. Med., Boston*, 1946, *234*, 784.

Rodewald (W.) : « Die Wirkung des Lichtes auf die Hypophyse von Rana temporaria. » *Z. vergl. Physiol.*, 1935, *21*, 767.

Rodewald (W.) : « Der Einfluss der Dunkelheit auf den das melanophorenhormonbinbenden Stoff im Froshblut. » *Z. vergl. Physiol.*, 1935, 22, 431.

Roth (A.) : « Ueber die Melanophorenwirksamkeit des menschlichen Hypophysenvorderlappens.» *Zblt. f. Path.*, 1932, *54*, 234.

Röthig (P.) : « Beiträge zum Studium des Zentralnervensystems der Wirbeltière, 3 : Zur Phylogenese des Hypothalamus. » *Folia neuro-biol., Leipz.*, 1911, *5*, 913.

Roussy (G.) et Mosinger (M.) : « Sur le lobe intermédiaire de l'hypophyse ». *C. R. Soc. Biol.*, 1934, *115*.

Roussy (G.) et Mosinger (M.) : « Sur le pigment noir de la région sous-thalamique ». *C. R. Soc. Biol.*, 1935, *118*, 324.

Roussy (G.) et Mosinger (M.) : « La régulation nerveuse du fonctionnement hypophysaire. » *Presse Médicale*, 30 sept. 1936, 79.

Roussy (G.) et Mosinger (M.) : « Le champ d'action de l'hypophyse. » *C. R. Soc. Biol.*, 1936, *122*.

Roussy (G.) et Mosinger (M.) : « Physiologie de la région hypothalamo-hypophysaire. » — In Roger (G.-H.) et Binet (L.) : « Traité de physiologie », *Masson, édit.*, 1939, *4*, 691.

Rowe (L.-W.) : « Studies on oxytocin and vasopressin ; effect on frog melanophores. » *Endocrinology*, 1928, *12*, 663.

S

Samuel : Cité par Crosnier.

Sawko : *Zbl. f. Gynaek*, 1943, 474.

Schmidt (W.-J.) : « Die chromatophoren der reptilienhaut. » *Arch. f. mikr. Anat.*, 1917, *90*, 98.

Schmidt (W.-J.) : « Ueber pigmentfrei Auslaüfer, Kerne und Centren der Melanophoren bei den Fröschen. » *Arch. f. Zellforsch, u. mikr. Anat.*, 1921, *15*, 269.

Schockaert (J.-A.) : « Difference between anterior pituitary sex stimulating hormanes and pregnancy urines substances as tested in the male mammal and bird. » *Am. J. Phys.*, 1933, *105*, 497.

Schurmeyer (A.) : « Ueber die Innervation der Pars intermedia der Hypophyse der Amphibien ». *Klin. Wochenschr.*, 1926.

Schweckendick (D.) : « Die Einwirkung des Lichtes auf die morphologische Struktur der Frosh Hypophyse ». *Graefe's Arch. f. Ophtalm.*, 1943, *146*, 299.

Scott (I. D.) : *Brit. J. exp. Path.*, 1940, *21*, 320.

Seegar et Gey : « The production of hormones by human placental cells in continous tissue culture ». *Am. J. Physiol.*, 1940, *129*, 459.

Servantie (L.), Cambar (R.), Moretti (G.-F.) et Bonnal (R.) : « Technique d'hypophysectomie chez la grenouille. Mise en application du test des mélanophores. Causes d'erreur, intérêt ». *Biologie Médicale*, janv. 1947.

Servantie (L.) et Moretti (G.-F.) : « Le mélanophoro-diagnostic de la grossesse. Application et valeur ». *A paraître dans la Biologie Médicale*,

Severinghaus (A.) : « Cytological studies on the rat pituitary after injection of pregnancy urine extract and pregnancy blood serum ». *Anat. Rec.*, 1934, *60*, 43.

Severinghaus (A.) : « Anterior hypophyseal cytology ». — In Allen (E.) : « Sex and intern secretions », 2e édit., 1939, 1045.

Shen (T. C. R.) : « Influence du piperidino-methyl — 3 — benzodioxane (F. 933), sur les mélanophores de la grenouille. Rôle de l'hypophyse ». *C. R. Soc. Biol.*, 1937, *124*, 991.

Shen (T. C. R.) : « Sur la pharmacologie des mélanophores de la grenouille. Rôle de l'hypophyse ». *C. R. Soc. Biol.*, 1937, *126*, 433.

Shen (T. C. R.) : « The pharmacology of melanophores in frog (Rana temporaria), and the rôle of the hypophysis ». *Arch. intern. Pharm. a. Therap.*, 1937, *57*, 289.

Shen (T. C. R.) : « Rôle de l'hypophyse dans l'action des substances pharmacologiques sur les mélanophores de grenouille ». *C. R. Soc. Biol.*, 1938, *128*, 1.170.

Shen (T. C. R.) : « The mecanism of the melanophore expanding action of several drugs and its relationship to the internal secretion of the hypophysis in frogs». *Arch. intern. Pharm. a. Therap.*, 1939, *62*, 295.

Smith (P.-E.) : « Ablation of the hypophysis in frog embryos ». *Science, Lancaster*, 1916, *44*, 280.

Smith (P.-E.) : « Note on the pressor and melanophore principles ». *Anat. Rec.*, 1924, *27*.

Smith (P.-E.) : *J. exp. Zool.*, 1931, *58*, 423.

Smith (P.-E.) : « The responses of melanophores in isolated fish scales ». *Amer. Naturalist.*, 1939, *73*, 235.

Snyder (F.-F.) : « The presence of melanophore expanding and uterus stimulating substance in the pituitary body of early pig embryos ». *Amer. J. of Anat.*, 1929, *151*, 399.

Solland (E.) : « Rôle du système nerveux dans les changements de coloration chez la grenouille ». *C. R. As. Sc., Paris*, 1908, *147*, 536.

Spaeth (R.-A.) : « The mechanism of the contraction in the melanophores of fisches ». *Anat. Anzeiger*, 1913, *44*, 520.

Spaeth (R.-A.) : « Evidence proving the melanophore to be a disguised type of smooth muscle cell. ». *J. exp. Zool.*, 1916, *20*, 193.

Spaul (E.-A.) : « Experiments on the localisation of the substances in pituita y extracto responsible for metamorphic and pigmentary changes in amphibu ». *Brit. J. exp. Biol., Edinbourg*, 1924-25, *2*, 427.

Spaul (E.-A.) : « Experiments on the injection of pituitary body (anterior lobe), extracts to axolotl ». *Brit. J. exp. Biol., Edinbourg*, 1924-25, *2*, 33.

Stehle (R.-L.) : « Die Melanophoren — erveiternde Wirkung des Hypophysenextraktes ». *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, 1934, *175*, 466.

Stehle (R.-L.) : « Method for obtaining preparation of melanophore hormone of pituitary gland ». *J. Pharmac. exp. Therap.*, 1936, *57*, 1.

Stehle (R.-L.) : « The chemistry of the hormones of the posterior lobe of the pituitary gland ». *Ergeb. Vitamin. und Hormonforsch*, 1938, *1*, 114.

Stehle (R.-L.) et Fraser (A.-M.) : « Purification of pressor and ocytocic hormones of pituitary gland and some observations on chemistry of products ». *J. Pharm. et exp. Therap.*, 1935, *55*, 136.

Stutinsky (F.) : « Déterminisme expérimental de l'expansion des chromatophores ». *C. R. Soc. Biol.*, 1934, *116*, 284.

Stutinsky (F.) : « Expansion des érythrophores chez Phoxinus laevis par des produits non hypophysaires ». *C. R. Soc. Biol.*, 1934, *115*. 241.

Stutinsky (F.) : « Sur la physiologie des érythrophores du vairon ; action des extraits hypophysaires ». *Bull. Soc. Zool.*, 1935, *60*, 173.

Stutinsky (F.) : « Effets de l'illumination continue sur la structure de la glande pituitaire de la grenouille ». *C. R. Soc. Biol.*, 1936, *123*, 421.

Stutinsky (F.) : « Modifications histologiques de l'hypophyse de la grenouille après lésions infundibulaires ». *C. R. Assoc. Anat. 22e réunion, Marseille*, 1937, 396.

Stutinsky (F.) : « Sur les zones de régénération de l'hypophyse de la grenouille adulte ». *C. R. Soc. Biol.*, 1938, *127*, 184.

Stutinsky (F.) : « Neurocrinie hypophysaire et réflexe photo-pituitaire chez la grenouille ». *C. R. Soc. Biol.*, 1938, *127*, 409.

Stutinsky (F.) : « Contribution à la physiologie hypophysaire des batraciens. Les corrélations opto-pituito-mélanocytiques chez la grenouille ». *Thèse Médecine, Paris*, 1939.

Sulzberger (M.-B.) : « The pituitary hormone intermédia ». *J. Am. Med. Assoc.*, 128, 100.

Sulzberger (M.-B.) : « Pituitary hormone intermedin as active antidiuretic in treatment of diabetes insipidus ». *J. Am. Med. Assoc.*, 1933, *100*, 1928.

Sumner (F.-B.) : *Biol. Rev.*, 1940, *15*, 351.

Sumner (F.-B.) et Wells (N.-A.) : « The effect of optic stimuli upon the formation and destruction of melanin pigment in fishes ». *J. exp. Zool.*, 1933, *64*, 377.

T

Teague (R.-S.) : « Relation of melanophore hormone of pituitary gland to oxygen consumption of rat ». *Endocrinology*, 1939, *25*, 953.

Teague (R.-S.), Noojin (R.-O.) et Geiling (E. M. K) : « The hypophysectomised frog (R. pipiens), as a specific test object for melanophore hormone of the pituitary body ». *J. Pharm. a. exp. Therap.*, 1938, *65*, 115.

Tornier (G.) : « Nachweis über das Entstehen von Albinismus, Melanismus und Neotenie bei Froschen ». *Zool. Anz.*, 1908, *23*, 284.
Trendelenburg (P.) : « Weitere Versuche ueber den Gehalt des Liquor cerebrospinalis an wirk samen Substanzen des Hypophysenhinterlappen ». *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1926, *114*, 255.
Trendelenburg (P.) : *Die Hormone*, Springer, édit., Berlin, 1929 et 1934.
Tusques (J.) : « Démonstration d'un réseau nerveux dans la membrane caudale des têtards de batraciens examinés in toto ». *C. R. Soc. Biol.*, 1939, *131*, 258.

V

Valso (J.) : « Der Hormongehalt der Hypophyse des Blauwals (Balaenoptera sibbaldii) ». *Klin. Wochenschr.*, 1934, *13*, 1.819.
Valso (J.) : « Der Hormongehalt der Hypophyse des Blauwals (Balaenoptera sibbaldii) ; Wachstumhormon ». *Klin. Wochenschr.*, 1935. *14*, 1.183.
Van Dyke (H.-B.) : « Die Verteilung der wirksamen Stoffe der Hypophyse auf die Verschiedenen teile Derselben ». *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, 1926, *114*, 262.
Van Dyke (H.-B.) : « The physiology and pharmacology of the pituitary body ». *Univ. Chicago Press*, 1936.
Van Dyke (H.-B.) : « The physiology and pharmacology of the pituitary body ». *Univ. Chicago Press*, 2e *édit.*, 1940.
Veil (C.) : « Mécanisme du changement de couleur chez les poissons ». *C. R. Acad. Sc.*, 1935, *201*, 914.
Veil (C.) : « Hypophysectomie et changement de couleur chez le poisson-chat ». *C. R. Soc. Biol.*, 1937, *124*, 111.
Veil (C.) : « Evaluation de la quantité d'intermédine contenue dans l'organisme du poisson-chat ». *C. R. Soc. Biol.*, 1938, *127*, 42.
Veil (C.) : « Action simultanée de l'adrénaline et de l'intermédine sur les mélanophores de la carpe ». *C. R. Soc. Biol.*, 1938, *127*, 44.
Veil (C.) : « Mécanisme de la dilatation des cellules pigmentaires comme suite lointaine à l'injection d'adrénaline chez le poisson ». *C. R. Soc. Biol.*, 1939, *131*, 860.
Veil (C.) et May (R.-M.) : « Hypophysectomie et changement de couleur chez la torpille (Torpedo marmorata) ». *C. R. Soc. Biol.*, 1937, 917.
Verne (J.) : « Les pigments de l'organisme animal ». *Doin, édit., Paris*, 1927.
Verne (J.) : « Hypophyse et pigmentation : l'hormone mélanotrope. In « Régulations hormonales ». *Baillères, édit., Paris*, 1937.
Verne (J.) et Vilter (V.) : « Réactions pharmacodynamiques des mélanocytes de l'écaille isolée ». *C. R. Soc. Biol.*, 1935, *119*, 1.312.
Vilter (V.) : « Modifications du système mélanique chez les axolotls soumis à l'action de fonds blancs ou noirs ». *C. R. Soc. Biol.*, 1931, *108*, 774.
Vilter (V.) : « Migration des mélanophores dermiques dans l'épiderme chez l'axolotl ». *C. R. Soc. Biol.*, 1932, *110*, 938.
Vilter (V.) : « Les rapports entre le contrôle humoral et neuro-humoral de la pigmentation mélanique de l'axolotl ». *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *112*, 1.653.

Vilter (V.) : « Les phénomènes intimes de la pigmentation de la cellule épithéliale chez les vertébrés ». *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *113*, 1.086.
Vilter (V.) : « Contrôle sympathico-hypophysaire de la pigmentation mélanique chez les mammifères ». *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *113*, 1.215.
Vilter (V.) : « Le mélanoblaste dendritique des vertébrés et sa signification fonctionnelle ». *Bull. Soc. Fr. Dermat. et Syph.*, 1935, *42*, 1.118.
Vilter (V.) : « Réglage sympathico-hypophysaire de la pigmentation mélanique chez les sélaciens ». *C. R. Soc. Biol.*, 1937, *126*, 794.
Vilter (V.) : « Déterminisme physiologique du dessin mélanique de l'axolotl ». *Arch. Anat., Histol. et Embryol.*, 1938, *26*, 1. — Thèse Sciences, Paris, 1939.

W

Wachholder (K.) et Morgenstern (V.) : « Der Einfluss von Wirksubstanzen Nebennierenrinde und von Adrenalin auf die Leistungen der Muskel normaler und nebennierenloser Frosche ». *Pflüger's Arch.*, 1933, 232, 444.
Waring (H.) : *Proc. Trans. Liverpool Biol. Soc.*, 1936, *49*, 17.
Waring (H.) : *Ibid.*, 1936, *49*, 65.
Waring (H.) : « Chromatic behavior of elasmobranchs ». *Proc. Ray. Soc. London*, 1938 B, *125*, 264.
Waring (H.) : *Proc. Roy. Soc. London*, 1940, *128*, 343.
Watrin (J.) : « Les pigments cutanés et la mélanogénèse ». *Rev. Méd. de l'Est*, 1934, *62*.
Woronzowa (M.-A.) : « Morphogenetische Analyse der Farbung bei weissen Axolotln ». *Arch. f. Entw. Mech.*, 1929, *115*, 93.
Wyman (L.-C.) : « Blood and nerve as controlling agents in the movements of melanophores ». *J. exp. Zool.*, 1924, *39*, 73.

Z

Zieske (R.) : « Einfluss der Entfernung von Hypophyse oder Auge auf den Farbwechsel des Laubfrosche ». *Z. vergl. Physiol*, 1932, *17*, 606.
Zondek (B.) : « Chromatophoric principle of the pars intermedia of the pituitary ». *Gland. Physiol. a Therap. Am. Med. Assoc.*, 1934, *104*, 637.
Zondek (B.) : *Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappen.* Springer, édit., Berlin, 1935.
Zondek (B.) et Krohn (H.) : « Hormon des Zwischenlappens der Hypophyse (Intermedin) ». *Klin Wochenschr.*, 1932, *11*, 849 et 1.293.
Zoond (A.) et Eyre (J.) : « *Phil. Trans.* », 1934 B., 223, 27.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 11

CHAPITRE PREMIER

Historique des tests de grossesse 13

I. — Tests abandonnés 13
II. — Tests actuels 16
III. — Tests en expérimentation 22

CHAPITRE II

Généralités sur le complexe hypophyso-pituitaire et l'hypothalamus 25

I. — Historique 25
II. — Morphologie 27
III. — Histophysiologie 30

CHAPITRE III

Le Mélanophore 37

I. — Etude morphologique 38
A. — Chez les batraciens 38
B. — Chez les mammifères 42
II. — Physiologie du mélanophore 44
A. — Mécanisme des mouvements du mélanophore.. 44
B. — Etat de repos du mélanophore 46
C. — Mélanophorogénèse et mélanophorolyse 47

CHAPITRE IV

L'hormone mélanotrope 49

I. — Sa découverte 49
II. — Origine sécrétoire 51
A. — La théorie lobaire 52
B. — La théorie cellulaire 55

III. — Extraction 57
Phénomène d'activation 58
IV. — Propriétés et nature 59
V. — Individualité. — Rôle physiologique 60
A. — Hormone mélanotrope et principe érythrophorique 60
B. — Intermédine et principe antidiurétique 63
C. — Intermédine et glycémie 63
D. — Hormone mélanotrope et métabolisme 64
E. — Hormone mélanotrope et sexualité 65
VI. — Titrage 65
VII. — Localisation dans l'organisme 67
A. — L'hormone mélanotrope dans les tissus 67
B. — L'hormone mélanotrope dans le sang 68
C. — L'hormone mélanotrope dans les urines 70
VIII. — Mécanisme d'action 71
A. — Les excitants 71
B. — Voies centripètes 75
C. — Les centres sécrétoires 76
D. — Voies centrifuges 77
IX. — Régulation de la mélanocinèse 80
A. — Théorie uniciste 80
B. — Théorie dualiste : Régulation antagoniste 81

CHAPITRE V

Le test des mélanophores 87
I. — Les tests mélanophoriques 88
A. — Tests sur les animaux entiers 88
B. — Tests sur les mélanophores isolés 92
C. — Tests sur les animaux préparés 93
II. — Tests mélanophoriques et grossesse 95
III. — Substances mélanophoro-dilatatrices 98
A. — Substances actives sur les animaux entiers 98
B. — Substances actives sur les mélanophores isolés 99
C. — Substances actives sur les animaux hypophysectomisés 100

CHAPITRE VI

L'animal réactif et la pratique du test 103
I. — Rappel anatomique 104
II. — Technique d'hypophysectomie 106
A. — Anesthésie 107
B. — Intervention 107
III. — L'animal opéré 111

A. — Suites post-opératoires normales 111
B. — Mortalité et complications opératoires..... 113
C. — Valeur de l'animal réactif..... 115
IV. — Pratique du test 117
A. — Injection des produits biologiques..... 117
B. — Lecture du test. — Index mélanophorique ... 118
C. — Précision de l'index 119

CHAPITRE VII

Résultats expérimentaux 123
I. — Résultats dans la grossesse 124
II. — Résultats en dehors de la grossesse 131
III. — Essais chimiques 132
Concentration de l'hormone mélanotrope dans les urines 132
Conclusions 137
Tableau I : Grossesses 140
Tableau II : Urines non gravidiques 144
Tableau III : Essais chimiques 148
Bibliographie 151

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la Médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaires ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes ; si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu :

Le Doyen,
R. Dupérié.

Vu, bon à imprimer :

Le Président du Jury,
Rivière.

Vu et permis d'imprimer.

Bordeaux, le 23 juillet 1947

Le Recteur,
A. Marchaud.

Achevé d'imprimer sur les presses de l'IMPRIMERIE DU MIDI, 14, Rue de la Loge, Perpignan, le neuf décembre mil neuf cent quarante-sept